RESEARCH ARTICLE

Antimicrobial Activity of *Clausena harmandiana* Extract Against Bacteria Isolated from Dogs with Otitis Externa

Arinee Chatchawanchonteera[1*], Parisa Keeratikulapas[2], Nuntaporn Mungmai[2], Settsakit Chitsanoor[2], Arunee Boottasri[1], Prapan Kaenchumpa[1], Jinda Wangboonsakul[3]

Abstract

Objective — To evaluate hexane extract of *Clausena harmandiana* root barks against bacteria isolated from dogs with otitis externa.

Materials and Methods — Root barks of *Clausena harmandiana* were extracted with hexane then concentrated with a rotary evaporator. The extract was tested against 68 bacterial isolates from dogs with otitis externa by microdilution broth method. *E.coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were used as standard control strains. Minimum inhibitory concentration (MIC) from each test was determined.

Results — The result showed that *Clausena harmandiana* extract had antimicrobial activity against Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Pseudomonas* spp., β-Haemolytic Streptococcus, α-Haemolytic Streptococcus, *Staphylococcus* spp. and *Enterobacter* spp. with MIC values of 12.27, 4.22, 15.99, 9.17, 0.08, 0.03, 1.00 and 15.12 mg./ml. respectively. In addition, MIC values of *Clausena harmandiana* extract showed significant difference between Gram positive and Gram negative bacteria. ($p<0.05$)

Conclusion — Hexane extract of *Clausena harmandiana* root barks can, with different MICs, inhibit various bacteria isolated from dogs with otitis externa.

KKU Vet J. 2009;19(1):48-55 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

Key words : *Clausena harmandiana*; Otitis externa; Antimicrobial activity; MIC; Dogs

[1]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

[2]Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

[3]Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

***Corresponding author** E-mail: arinee@kku.ac.th

ผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคหูอักเสบที่เพาะแยกได้จากสุนัข

อารินี ชัชวาลชลธีระ[1*], ปริษา กีรติกุลภาส[2], นันทพร มุ่งหมาย[2], เศรษฐกิตย์ จิตเสนาะ[2], อรุณี บุตรตาสี[1], ประพันธ์ แก่นจำปา[1], จินดา หวังบุญสกุล[3]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดด้วยเฮกเซนจากต้นส่องฟ้าดงต่อแบคทีเรียก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบที่แยกจากสุนัข

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ เก็บเปลือกรากจากต้นส่องฟ้าดง อบให้แห้ง แล้วสกัดด้วยเฮกเซน ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ จำนวน 68 ตัวอย่าง โดยมี *E.coli* ATCC 25922 และ *Staphylococus aureus* ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ โดยใช้วิธี Microdilution Broth Method

ผลการศึกษา สารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Pseudomonas* spp., β-Haemolytic Streptococcus, α- Haemolytic Streptococcus, *Staphylococcus* spp. และ *Enterobacter* spp. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ของแต่ละเชื้อเท่ากับ 12.27, 4.22, 15.99, 9.17, 0.08, 0.03, 1.00 และ 15.12 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมีค่าแตกต่างจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ข้อสรุป สารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ที่ก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข ด้วยค่า MIC ที่แตกต่างกัน

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2552;19(1):48-55 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

คำสำคัญ : ต้นส่องฟ้าดง โรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ค่า MIC สุนัข

[1]ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

[2]นักศึกษาสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

[3]ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

***ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ** E-mail: arinee@kku.ac.th

บทนำ

โรคช่องหูส่วนนอกอักเสบเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วไปในสุนัขและแมว การวินิจฉัยและการทำการรักษาที่เหมาะสมเป็นเรื่องที่มีความท้าทาย การตรวจและรักษาจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาปกติของช่องหู จุลชีพประจำถิ่น เยื่อแก้วหูและช่องหูชั้นกลางซึ่งมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษาโรคหูอักเสบ [1]

สุนัขที่ป่วยเป็นโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบจะพบด้านในใบหูแดง ผิวหนังบริเวณดังกล่าวมีการหนาตัวขึ้นและมีสะเก็ด และอาจพบของเหลวหรือหนองไหลออกมาจากช่องหูได้ ซึ่งเมื่อนำไปเพาะแยกเชื้อพบว่ามีนัยสำคัญและสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การปรากฏความผิดปกติได้ [2] โรคช่องหูส่วนนอกอักเสบมีกลไกการเกิดได้หลากหลายแบคทีเรียเป็นสาเหตุหนึ่งที่ความสำคัญต่อการเกิดโรคในช่องหู แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในช่องหู คือ *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia* spp., และ *Proteus* spp. [2] ในรายที่ไม่มีข้อแทรกซ้อน วิธีการที่เหมาะสมในการรักษาคือการให้ยาปฏิชีวนะแบบเฉพาะที่ รวมไปถึงการให้ยาต้านการอักเสบและการทำความสะอาดหู [3] แต่พบว่าต้องมีการบริหารยาเพื่อการรักษาโรคหูอักเสบในระดับที่สูงกว่าการทดสอบความไวยาที่เคยมีผู้ทำการศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ [4] นอกจากนี้พบว่าเชื้อบางชนิด เช่น *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคหูอักเสบ มีแนวโน้มที่จะดื้อยาส่งผลให้การประสบความสำเร็จในการรักษาเป็นไปได้ยาก [5]

ต้นส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana* (Pierre) Pierre ex Guillaumin) อยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กมีใบเป็นรูปไข่แกมวงรี ดอกเป็นดอกช่อสีขาวแกมเหลือง ผลสดรูปทรงกลม ใบและยอดอ่อนสามารถนำมารับประทานเป็นอาหารได้ [6] ส่วนรากมีการนำไปต้มกับน้ำ ใช้ดื่มแก้อาการปวดศีรษะ ยังมีการนำไปผสมกับสมุนไพรชนิดอื่น เพื่อนำไปใช้ในการรักษาโรค เช่น โรคหลอดลมอักเสบ แก้จุกเสียด [7]

ต้นส่องฟ้าดง เป็นสมุนไพรพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีการนำมาสกัดเอาสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพื่อใช้ในการบำบัดโรคต่างๆ มีรายงานการสกัดสารชีวภัณฑ์จากต้นส่องฟ้าดง คือ coumarins และ carbazoles [8] พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อพลาสโมเดียม (*Plasmodium falciparum*) รวมถึงยังอ้างอิงถึงข้อมูลของ coumarins ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากต้นส่องฟ้าดงว่ามีประโยชน์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา [9] อีกทั้งยังมีรายงานว่าสารสกัดจาก *Clausena excavate* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน (Rutaceae) กับต้นส่องฟ้าดง มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของมัยโคแบคทีเรีย และเชื้อราได้ [10] และสารสกัดที่ได้จากใบของ *Clausena heptaphylla* Wight & Arn ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกันกับต้นส่องฟ้าดง มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ [11]

ปัจจุบันแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิดมีแนวโน้มในการดื้อยาสูงโดยเฉพาะเชื้อ *E. coli*, *Pseudomonas* spp. และ *Proteus* spp. ในกรณีหูอักเสบ ดังนั้นเพื่อลดปัญหาการดื้อยาและเป็นการส่งเสริมการใช้สมุนไพรพื้นบ้านแทนการใช้ยาปฏิชีวนะซึ่งมีราคาสูง และบางชนิดต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทั้งยังมีผลข้างเคียงต่อคนและสัตว์ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติใน

การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคหูอักเสบและหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในวงการแพทย์และสัตวแพทย์ต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมสารสกัด

เก็บเปลือกรากของต้นส่องฟ้าดงมาอบให้แห้งในตู้อบที่ 50˚C นาน 3 ชั่วโมง บดเป็นผงด้วยเครื่องบดซึ่งได้น้ำหนัก 2.8 กิโลกรัม แล้ว Reflux ด้วย Hexane 20 ลิตรเป็นเวลา 17 ชั่วโมง จากนั้นก็นำมากรองและทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง Rotary evaporator

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

ทำการเพาะแยกเชื้อจากหูสุนัขที่เกิดหูอักเสบจำนวน 68 ตัวอย่าง เชื้อที่แยกพบได้แก่ *Klebseilla* spp. จำนวน 4 ตัวอย่าง *Pseudomonas aeruginosa* จำนวน 20 ตัวอย่าง *S. aureus* จำนวน 21 ตัวอย่าง *E. coli* จำนวน 4 ตัวอย่าง *Proteus mirabilis* จำนวน 7 ตัวอย่าง *Pseudomonas* spp. จำนวน 6 ตัวอย่าง β-Haemolytic Streptococcus จำนวน 2 ตัวอย่าง α- Haemolytoc Streptococcus จำนวน 1 ตัวอย่าง *Staphylococcus* spp. จำนวน 1 ตัวอย่างและ *Enterobacter* spp. จำนวน 2 ตัวอย่าง ส่วน *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อมาตรฐานจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยนำเชื้อที่แยกได้จากช่องหูสุนัขมาเพาะเชื้อใน Blood agar 24 ชั่วโมงแล้วเลือกโคโลนีของเชื้อมา 3-5 โคโลนี เพาะเลี้ยงใน Mueller Hinton Broth (HIMEDIA , India) ประมาณ 2-6 ชั่วโมง จากนั้นก็เตรียมเชื้อให้ได้ความขุ่นเทียบเท่า 0.5 McFarland แล้วเจือจางด้วยน้ำเกลือ 1 : 100 จะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ

การทดลองทำตามมาตรฐานของ National Committee for Clinical Laboratory Standards และวิธีของเจษฎาและคณะ [12] วิธีเตรียมโดยละลายสารสกัดส่องฟ้าดง 1 กรัมด้วย absolute ethanol 3 มิลลิลิตรและกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman ®, Ahlstrom , USA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ขนาดรูกรอง 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เติมในหลุมแรกของไมโครเพลท แล้วเจือจางให้ความเข้มข้นลดลง 2 เท่าตามลำดับด้วย Mueller Hinton Broth จนถึงหลุมที่ 10 โดยมีหลุมที่ 11 เป็นหลุมควบคุมผลบวกและหลุมที่ 12 เป็นหลุมควบคุมผลลบ

สำหรับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Sigma®, Aldrich, USA) เจือจางที่ความเข้มข้น 5 และ 100 ไมโครลิตรจนถึงหลุมที่ 10 ส่วนหลุมที่ 11 และ 12 เป็นหลุมควบคุมผลบวกและผลลบตามลำดับ เติมเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ในแต่ละหลุม ๆ ละ 50 ไมโครลิตร ตั้งแต่หลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 จากนั้นนำไปอบที่ 37˚C 18-24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อจากความขุ่น

โดยหลุมที่ใสจะไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ความเข้มข้นของสารสกัดในหลุมแรกที่ใสจะถูกบันทึกเป็นค่า MIC และนำไปเพาะเชื้อใน Standard Plate Count Agar 24 ชั่วโมงและ blood agar สำหรับใช้เพาะเชื้อ *Streptococcus* spp. อบที่ตู้ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

การอ่านผล

การอ่านผลการยับยั้งเชื้อโดยพิจารณาค่า MIC จากไมโครเพลทและผลการยับยั้งเชื้อจากการเพาะเลี้ยงใน Standard Plate Count Agar โดยยึดเกณฑ์ที่เชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิน 5 โคโลนี

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การทดลองนี้ตัวอย่างทดสอบทั้งหมด 68 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 5 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้จากการบันทึกผลเป็นระดับของความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (MIC ± SD) และทดสอบความแตกต่างของเชื้อแต่ละกลุ่มและความสัมพันธ์ของความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อในแต่ละเชื้อทางสถิติ โดยใช้ ANOVA และวิธี Duncan new multiple range test ในการวิเคราะห์

ผลการศึกษา

ผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบส่องฟ้าดงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข จำนวน 68 ตัวอย่าง โดยใช้วิธี Microdilution Broth Method พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Pseudomonas* spp., β-Haemolytic Streptococcus, α-Haemolytoc Streptococcus, *Staphylococcus* spp. และ *Enterobacter* spp. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของแต่ละเชื้อเท่ากับ 12.27, 4.22, 15.99, 9.17, 0.08, 0.03, 1.00 และ 15.12 มก./มล. ตามลำดับ โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย MIC ± SD ดังแสดงใน **Table 1** และ **Table 2**

Table 1. MIC Values (mg/ml) of *Clausena harmandiana* Extract Against Some Gram Positive Bacteria

Bacteria	MIC values (Mean ± Standard Deviation)
S. aureus	4.22 [a] ± 5.74
Staphylococcus spp	1.00 [a,b] ± 1.45
β -Hemolytic Streptococcus	0.08 [b] ± 0.15
α -Hemolytic Streptococcus	0.03 [b] ± 0.002
S. aureus ATCC 25923	0.05 ± 0.03

[a]Different superscripts indicate a significant difference.

จากข้อมูลความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงต่อเชื้อก่อโรคช่องหูอักเสบส่วนนอก เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อทดสอบหาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อในแต่ละเชื้อ พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก มีค่าแตกต่างจากกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

นอกจากนี้ยังพบว่าภายในแต่ละกลุ่มเชื้อทั้งกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงมีความแตกต่างกันของบางเชื้อภายในกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ด้วย

Table 2. MIC Values (mg/ml) of *Clausena harmandiana* Extract Against Some Gram Negative Bacteria

Bacteria	MIC values (Mean ± Standard Deviation)
Klebseilla spp.	14.98 [b] ± 3.26
P.aeroginosa	12.27 [a b] ± 7.66
E.coli	> 16.67
P.mirabilis	15.99 [b] ± 7.62
Enterobacter spp.	15.12 [b] ± 2.63
Pseudomonas spp.	9.17 [a] ± 8.90
E.coli ATCC 25922	> 16.67

[a]Different superscripts indicate a significant difference.

วิจารณ์

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดจากเปลือกรากต้นส่องฟ้าดง มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัขที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, S. aureus, Proteus mirabilis, Pseudomonas* spp., β-Haemolytic Streptococcus, α-Haemolytic Streptococcus., *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* และสามารถยับยั้งเชื้อ *Klebseilla* spp. ได้เพียงบางตัวอย่าง แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ถ้าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงที่ใช้ในการทดลองนี้ซึ่งอาจต้องเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น

เมื่อนำข้อมูลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงของแต่ละเชื้อมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ พบว่าในกลุ่มเชื้อที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ แตกต่างจากกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีแนวโน้มที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมีค่าต่ำกว่ากลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของแต่ละกลุ่มทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ภายในแต่ละกลุ่มเชื้อ โดยใช้สถิติ DUNCAN พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในบางชนิดของเชื้อ ($p<0.05$) และสามารถจัดแบ่งได้เป็นกลุ่มย่อยของเชื้อที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ ($p>0.05$)โดยกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสามารถจัดแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่ม A ได้แก่ เชื้อ *S. aureus* และ *Staphylococcus* spp. และกลุ่ม B ได้แก่ *Staphylococcus* spp., β-Haemolytic Streptococcus และ α-Haemolytic Streptococcus ส่วนในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบสามารถจัดแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มเช่นกัน โดยกลุ่มที่ A ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas* spp. กลุ่ม B ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Enterobacter* และ *Klebseilla* spp. ดังแสดงไว้ใน **Table 1** และ **Table 2** โดยทั้งกลุ่ม A และ B ในเชื้อแต่ละกลุ่มใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงในการยับยั้งเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

กลไกการยับยั้งเชื้อของต้นส่องฟ้าดงเป็นผลมาจากสาร carbazole alkaloids ที่อยู่ในเปลือกราก [8] ซึ่งจะไปมีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์ protein kinase C และ topoisomerase เป็นผลทำให้เกิดการทำลายของดีเอ็นเอตามมา [13,14] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสาร carbazole alkaloids มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้งในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ หรือแม้กระทั่งเชื้อรา (Chakraborty et al., 1994) แต่ในการศึกษานี้สารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงให้ผลยับยั้งเชื้อในกลุ่มแกรมบวกได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อในกลุ่มแกรมลบบางตัว เช่น *Klebseilla* spp. และ *E.coli* ได้ที่ความเข้มข้นนี้ อาจต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดและทำการศึกษาต่อไป ส่วนความเป็นพิษของต้นส่องฟ้าดงนั้นในขณะนี้ยังไม่ได้มีผู้ทำการศึกษาแต่อย่างใด

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นของสารสกัดจากต้นส่องฟ้าดงกับเชื้อก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด รวมทั้งยังไม่มีรายงานถึงความเป็นพิษของสารสกัดดังกล่าว จึงนับว่าเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่เหมาะแก่การนำไปใช้แทนยาปฏิชีวนะ แต่อย่างไรก็ดีควรมีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดและความเป็นพิษที่อาจเกิดกับตัวสัตว์เพิ่มเติม รวมทั้งการสกัดและตำหรับการเตรียมที่มีประสิทธิภาพเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในวงการแพทย์และสัตวแพทย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สพ.ญ.กชกร ดิเรกศิลป์และผศ.น.สพ.สราวุธ ศรีงาม ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างจากช่องหูสุนัขที่เป็นโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ นางอรุณี บุตรตาสี และนายประพันธ์ แก่นจำปา ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและแนะนำการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ และ ผศ.น.สพ.สุรสิทธิ์ อ้วนพรหมมา หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา สำหรับการอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Griffin CE. Otitis Techniques to Improve Practice. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2006;21:96-105.
2. Carter GR, Chengappa MM. Microbial Diseases. *A Veterinarian's Guide to Laboratory Diagnosis*. Ames: Iowa State University Press; 1993.
3. Dowling PM. Antimicrobial therapy of skin and ear infections. *Can Vet J.* 1996;37:695-699.
4. Morris DO. Medical therapy of otitis externa and otitis media. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34:541-555.
5. Pirnay J, De Vos D, Cochez C, Bilocq F, Pirson J, Struelens M, et al. Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa colonization in a burn unit: persistence of a multidrug-resistant clone and a silver sulfadiazine-resistant clone. *J Clin Microbial.* 2003;41:1192-1202.
6. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. พืชกินได้ในป่าสะแกราช [ออนไลน์]. 2007. [cited 2008 April 10]. Avialable from: http://www.tistr.or.th/sakaerat/Plant%20in%20Sakaerat/plant%20list/155ฟ้าส่องดง.pdf
7. สมัดส่องฟ้า [database on internet] สถาบันวิจัยรุกขเวช. 2008. [cited 2008 April 10]. Available from: http://202.28.32.25/cdb/question.asp?QID=120
8. Chaichantiyuths C, Pummangura Naosarawd K, Thayavuthi. Two new bioactive carbazole alkaloids from the root bark of Clausena harmandiana. *J Natural Prod.* 1988;3:1285-1288.
9. Yenjai C, Sripontan S, Sriprajun P, Kittakoop P, Jintasirikul A, Tanticharoen M, et al. Coumarins and carbazoles with antiplasmodial activity from Clausena harmandiniana. *Planta Med.* 2000;66(3): 277-279.
10. Sunthikawisakul A, Kongkathip n, Kongkathip B, Phonnakhu S, John WD, Thomas FS, et al. Coumarins and carbazoles from Clausena excavata exhibited antimycobacterial and antifungal activities. *Planta Med.* 2003;69:155-157.
11. Swingle WT. *The Citrus Industry.* Berkeley: University of Calofornia Press; 1984.
12. เจษฎา จิวากานนท์ พิทยา ภาภิรมย์ อภัสรา วรราช เนตรชนก จิวากานนท์ อรุณี บุตรตาสี และ สาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2546. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียม ในการต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคในไก่และสุกร. *วารสารสัตวแพทย์ มข.* 13(2):24-33.
13. Pindur, U., Kim, Y.S., Mehrabani, F. Advances in indolo[2,3-a]carbazole chemistry: design and synthesis of protein kinase C and topoisomerase I inhibitors. *Curr Med Chem.* 1999;6(1):29-69.
14. Yoshida K, Yamaguchi T, Shinagawa H, Taira N, Nakayama KI, Mikil Y. Protein Kinase Cδ activates topoisomerase IIα to induce apoptotic cell death in response to DNA damage. *Mol Cell Biol.* 2006;45: 3414-3431.