RESEARCH ARTICLE

Inhibitory and Bactericidal Effects of *Pseuderanthemum palatiferum* and *Piper betle* L. Leaves Extracts Against *Salmonella* species

Bongkot Noppon[1*], Sunpetch Angkititrakul[1], Natchaya Pocapanich[2], Wisarut Muangpurn[2]

Abstract

Objectives — To study the inhibitory and bactericidal effects of *Pseuderanthemum palatiferum* and *Piper betle* L. leaves extracted by 3 solvents (distilled water, 40 degree liquor, and 95% ethanol) against *Salmonella* spp. isolated from humans and pigs.

Materials and Methods — Leaves of *Pseuderanthemum palatiferum* and *Piper betle* L. were extracted separately either by distilled water, 40 degree liquor, or 95% ethanol (each with ratio 1 gram of the leaf/20 ml of a solvent) for 12 hours. The extracts were then filtered and dried with 60 °C incubation. Dried extracts were dissolved in distilled water (ratio 250 mg/ml) before use. Eight strains of *Salmonella* spp. (5 from humans and 3 from pigs) were tested with the extracts by broth microdilution method for antimicrobial susceptibility. The experiments were done with 4 replicates.

Results — For *Pseuderanthemum palatiferum* leaves, minimal inhibiotry concentration (MIC) and mininmal bactericidal concentration (MBC) values of the distilled water extract were 0.78±0 and 1.56±0 - 3.13±0%, respectively; the extract with distilled water performed better than that with 40 degree liquor and with 95% ethanol. For *Piper bettle* L. leaves, MIC and MBC values of 40 degree liquor extract were 3.13±0 and 6.25±0%, respectively; these values were better than those of distilled water and of 95% ethanol extracts.

Conclusion — The 2 medicinal plants have a potential to use for *Salmonella* control. However, further studies such as comparisons of the efficacy of the plant extracts with other antimicrobials and toxicity tests of the extracts are required.

KKU Vet J. 2009;19(2): 171-179 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

Keywords: *Salmonella* spp., *Pseuderanthemum palatiferum*, *Piper betle* L., Broth microdilution

[1]Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002.

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

*__Corresponding authors__ E-mail: bonnop@kku.ac.th

ประสิทธิภาพของสารสกัดใบฮว่านง็อกและใบพลู ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อซัลโมเนลลา

บงกช นพผล[1], สรรเพชญ อังกิติตระกูล[1*], ณัฐชญา โภคาพานิชย์[2], วิศรุต เมืองพวน[2]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบฮว่านง็อก (*Pseuderanthemum palatiferum*) และใบพลู (*Piper betle* L.) ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และ เอทานอล 95% ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารในคนและสัตว์

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ ใบของฮว่านง็อกและใบพลูถูกสกัดโดยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% (อัตราส่วน ใบของพืช 1 กรัม / 20 มิลลิลิตรของตัวทำละลายแต่ละชนิด) สารสกัดดังกล่าวถูกกรองและทำให้แห้งโดยการอบที่ 60 องศาเซลเซียส เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบกับเชื้อซัลโมเนลลา 8 สายพันธุ์ (5 แยกจากคน และ 3 แยกจากสุกร) โดยวิธี broth microdilution

ผลการศึกษา สารสกัดใบฮว่านง็อกที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อคือ 0.78±0 และ 1.56±0 - 3.13±0% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลดีกว่าสารสกัดด้วยสุราขาว 40 ดีกรี และ เอทานอล 95% ในขณะที่สารสกัดใบพลูด้วยสุราขาว 40 ดีกรี สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ได้โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อคือ 3.13±0 และ 6.25±0% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95%

ข้อสรุป ใบฮว่านง็อกและพลูอาจเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้ต่อต้านเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีก เช่น การเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับยาต้านจุลชีพ และการหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดในการนำไปใช้

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2552;19(2):171-179 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

คำสำคัญ: ซัลโมเนลลา ฮว่านง็อก พลู วิธีบรอท ไมโครไดลูชั่น

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

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

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

บทนำ

เชื้อซัลโมเนลล่า เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง พบได้ในระบบทางเดินอาหาร ทั้งของคน และสัตว์ทั่วโลก การก่อโรคในคน มักเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ นม ผักสด น้ำผลไม้ [1] เป็นต้น แต่โดยส่วนใหญ่แล้วมีสาเหตุมาจากการบริโภคเนื้อสัตว์ ซึ่งนับเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญ เนื่องจากเป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่ทำให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจอย่างมาก และจากรายงานของสหภาพยุโรปในปี ค.ศ. 2007 พบว่าโรคที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลา อยู่ในอันดับที่สองรองจากโรคที่เกิดจากเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ที่ได้รายงานไว้ โดยมีผู้ป่วยจำนวน 151,995 คน ที่ได้รับผลกระทบ [2]

เชื้อซัลโมเนลล่า นอกจากก่อโรคแล้วยังก่อปัญหาการดื้อยา ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วโลก ทำให้ทั้งคนและสัตว์เจ็บป่วย อาจต้องใช้ระยะเวลาในการรักษายาวนานมากขึ้นกว่าเดิม สูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษา รวมถึงการรักษาที่ไม่ได้ผล เพราะไม่สามารถหายาที่เหมาะสมมารักษาได้ [3,4] มีรายงานการพบเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ที่ดื้อยาหลายชนิดพร้อมๆ กัน เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการดื้อยานี้สามารถถ่ายทอดจากสัตว์ไปสู่คนได้ [5] โดยที่เชื้อซัลโมเนลลา สามารถถ่ายทอดการดื้อยาผ่านทางยีนที่ควบคุมการดื้อยาแต่ละชนิด มีรายงานการพบยีนดื้อยา ampicillin, chloramphenicol, neomycin, streptomycin, sulfamethoxazole และ tetracycline ในเชื้อ *S.* Enterica serovar Weltevreden ที่แยกได้จากหลายประเทศ [6] มีการตั้งข้อสังเกตว่ายาที่ใช้ในฟาร์มสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อบริโภค เป็นสาเหตุของการแพร่เชื้อดื้อยาไปสู่คน [7] ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในอาหารอย่างเข้มงวดและต่อเนื่อง อีกทั้งในเนื้อสัตว์ที่คนใช้บริโภค เช่น เนื้อสุกร มีการตรวจพบยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ปัจจุบันจึงได้มีการประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะบางชนิดในการเลี้ยงสุกร ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร เกิดปัญหาเกี่ยวกับสุกรที่เลี้ยง ที่แต่เดิมมีการใช้ยาปฏิชีวนะมากอยู่แล้ว เมื่อเลิกใช้ทำให้สุกรเจ็บป่วยมากขึ้น ดังนั้น จึงจำเป็นต้องหาสิ่งทดแทนยาปฏิชีวนะ สมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่อาจนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสุกรได้ เพื่อให้ได้เนื้อสุกรที่ปลอดภัยจากสารปฏิชีวนะต่างๆ ที่มีใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

ฮว่านง็อกหรือพญาวานร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pseuderanthemum palatiferum* เป็นสมุนไพรที่มีต้นกำเนิดในประเทศเวียดนาม เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูง 1-3 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตามข้าม รูปใบหอกขอบใบเรียบ มีการใช้ใบฮว่านง็อกในการรักษาโรคต่างๆ ในคน เช่น ความดันโลหิต ท้องร่วง ไขข้ออักเสบ คออักเสบ กระเพาะอาหารอักเสบ เนื้องอก ลำไส้อักเสบ ตกเลือด รักษาแผล ท้องผูก เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีการนำมาใช้ในการรักษาและป้องกันโรคในสัตว์เลี้ยง ได้แก่ แก้ท้องร่วงในสุกรและสุนัข รักษาแผล และอหิวาต์ในไก่และเป็ด เป็นต้น [8] ในประเทศไทยมีการนำฮว่านง็อกมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มากมาย แต่เนื่องจากข้อมูลรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่จะนำมาใช้สนับสนุนยังมีน้อย การนำฮว่านง็อกมาใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรมจึงยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควร

พลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper betle* L. เป็นพวกไม้เถา ลำต้นเกลี้ยง ใบเดี่ยว ออกสลับกัน ลักษณะใบใหญ่ ก้านใบยาว เนื้อใบเป็นมันสีเขียวสดหรือสีเหลืองอมเขียว ขยายพันธุ์ได้ดี ชอบดินอุดมสมบูรณ์มีการระบายน้ำดี พบได้ทุกภาคของประเทศไทย ในสารสกัดหยาบและน้ำมันจากใบพลูสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้หลายชนิดได้แก่ *Salmonella* spp., *Bacillus megaterium*, *B. subtillis*, *Diplococus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora*, *Micrococcus pyogenes* และเชื้อราได้หลายชนิด ได้แก่ เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง คือ *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* [9]

การศึกษานี้ต้องการหาประสิทธิภาพสารสกัดจากใบฮว่านง็อก และใบพลูด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น, สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสม และดูแนวโน้มความเข้มข้นของสารสกัด ที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อซัลโมเนลล่า เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในการเลี้ยงสัตว์ต่อไปในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การสกัดใบฮว่านง็อก และใบพลูด้วยน้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95%

ใบพลูสดสีเขียว ซื้อจากตลาดสดบางลำพู ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ขณะที่ใบของฮว่านง็อกจะใช้ใบสีเขียวแก่ จากต้นที่เจริญเต็มที่แล้ว โดยซื้อจากอุทยานเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น นำใบพลู และใบฮว่านง็อก มาล้างและอบที่อุณหภูมิ 50˚C จนใบแห้งเป็นเวลา 30 - 40 ชั่วโมง แล้วนำมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักและแบ่งเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กัน ส่วนที่หนึ่งนำมาสกัดด้วยน้ำกลั่น ส่วนที่สองสกัดด้วย สุราขาว 40 ดีกรี ส่วนที่สามสกัดด้วย เอทานอล 95% โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรแห้ง 1 กรัม/ตัวทำละลาย 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางเก็บสารสกัดครั้งที่ 1 ไว้ที่อุณหภูมิ -20 ˚C นำกากที่เหลือมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายชนิดเดิมในอัตราส่วน1:20 (กรัม:มิลลิลิตร) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางเก็บสารสกัดครั้งที่ 2 รวมกับครั้งที่ 1 ไปอบที่อุณหภูมิ 60 ˚C ในตู้อบ จนได้สารละลายที่แห้งสนิท ก่อนการทดสอบนำไปละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน เพื่อฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ ที่อาจปนเปื้อนมาในสารสกัด

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อที่ทดสอบคือเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 8 strains ที่เก็บตัวอย่างมาจากคนและสุกรดังแสดงใน **Table 1** นำมาเพาะเชื้อใน Tryptic Soy Agar (TSA) นาน 24 ชั่วโมง แล้วเลือกโคโลนีของเชื้อมาลงในหลอดทดลองที่มี Mueller Hinton Broth (MHB, Scharlau®, Scharlau Chemie S.A., Barcelona, Spain) และผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอน้ำแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ˚C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรียให้มีความขุ่นเทียบเท่า 0.5 McFarland ซึ่งเป็นความขุ่นมาตรฐานที่จะใช้ในการทดลอง

Table 1. Serogroups, Type of Samples, and Sources of Isolates among 8 Strains of *Salmonella* spp. under Investigation

***Salmonella* spp.**	**Group**	**Type of Sample**	**Host**	**Location**
S. Anatum strain 1	E	Rectal swab	Pig	Khon Kaen, Thailand
S. Anatum strain 2	E	Rectal swab	Wean pig	Khon Kaen, Thailand
S. Typhimurium	B	Rectal swab	Human, Female	Khon Kaen, Thailand
S. Enteritidis strain 1	D	Rectal swab	Human, Male	Khon Kaen, Thailand
S. Enteritidis strain 2	D	Rectal swab	Human, Male	Khon Kaen, Thailand
S. Stanley strain 1	C	Rectal swab	Human, Male	Khon Kaen, Thailand
S. Stanley strain 2	C	Rectal swab	Human, Female	Khon Kaen, Thailand
S. Risen	C	Rectal swab	Pig	Khon Kaen, Thailand

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและฤทธิ์ฆ่าเชื้อซัลโมเนลลา

ทดสอบหาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดใบพลูด้วยน้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% และสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยน้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95%โดยวิธี broth microdilution ตามวิธีของ CLSI และ JVARM [10] สามารถทำได้ดังนี้คือ เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller-Hinton Broth ใน 96 well U-shaped plate (Nunclon™, Nalge Nunc International, USA) จากหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 12 หลุมละ 50 ไมโครลิตร ทดสอบเชื้อละ 4 ซ้ำ

หลุมที่ 1 ของแต่ละแถวเติมสารสกัดสมุนไพรที่ต้องการทดสอบลงไป 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเจือจางโดยเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 12.5% แล้วเจือจางแบบ serial two fold dilution ไปตามลำดับจนถึงหลุมที่ 10 แล้วดูดทิ้ง 50 ไมโครลิตร หลุมที่ 11 เติมสารสกัดสมุนไพร 50 ไมโครลิตร

เติมเชื้อซัลโมเนลลาที่เตรียมไว้แล้ว จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม ยกเว้นหลุมที่ 11 ซึ่งเป็น positive contol หลุมที่ 12 ไม่เติมสารสกัดเป็น negative control นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญของเชื้อจากความขุ่นด้วยตาเปล่าโดยหลุมที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจะมีลักษณะใส ความเข้มข้นสารสกัดในหลุมแรกที่ใสนี้จะถูกบันทึกเป็นค่า MIC

ทำการจุ่มเชื้อจากหลุมที่ใสไป streak บน Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (Himedia®, LBS Marg, Mumbai, India) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 24 ชั่วโมง ตรวจดูว่ามีการเจริญของเชื้อหรือไม่เพื่อหาค่า minimal bactericidal concentration (MBC) ทั้งนี้ MBC คือความเข้มข้นของสารสกัดในหลุมแรกที่ไม่มีเชื้อเจริญเติบโต [11]

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะนำมาบันทึกผลเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) ได้ โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SD) ของค่า MIC และ MBC ตามลำดับ

ผลการศึกษา

จากการทดสอบผลของสารสกัดใบฮว่านง็อกและใบพลูด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 8 strains แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย MIC ± SD ดังแสดงใน **Table 2** ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 8 strains แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย MBC ± SD ดังแสดงใน **Table 3** ตามลำดับ

Table 2. Mean ± Standard Deviation of MIC Values (%) of *Pseuderanthemum palatiferum* and *Piper betle* L. Extracts Against *Salmonella* spp.

***Salmonella* spp.**	***Pseuderanthemum palatiferum* MIC Values (%)**			***Piper betle* L. MIC Values (%)**		
	Distlled Water Extracted	**40 Degree Liquor Extracted**	**95% Ethanol Extracted**	**Distilled Water Extracted**	**40 Degree Liquor Extracted**	**95% Ethanol Extracted**
S. Anatum strain 1	0.78 ± 0	12.50 ± 0	0.98 ± 0.39	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Anatum strain 2	0.78 ± 0	12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Typhimurium	0.78 ± 0	12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Enteritidis strain 1	0.78 ± 0	12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Enteritidis strain 2	0.78 ± 0	>12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Stanley strain 1	0.78 ± 0	>12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Stanley strain 2	0.78 ± 0	>12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0
S. Risen	0.78 ± 0	>12.50 ± 0	1.56 ± 0	12.50 ± 0	3.13 ± 0	12.50 ± 0

Table 3. Mean ± Standard Deviation of MBC Values (%) of *Pseuderanthemum palatiferum* and *Piper betle* L. Extracts Against *Salmonella* spp.

Salmonella spp.	*Pseuderanthemum palatiferum* MBC values (%)			*Piper betle* L. MBC values (%)		
	Distilled Water extracted	40 degree liquor extracted	95% ethanol extracted	Distilled Water extracted	40 degree liquor extracted	95% ethanol extracted
S. Anatum strain 1	1.56±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Anatum strain 2	1.56±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Typhimurium	3.13±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Enteritidis strain 1	1.56±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Enteritidis strain 2	3.13±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Stanley strain 1	3.13±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Stanley strain 2	3.13±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0
S. Risen	3.13±0	>12.50±0	3.13±0	>12.50±0	6.25±0	>12.50±0

จากตารางข้างต้นพบว่าสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยน้ำกลั่น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ดีกว่าสารสกัดใบพลู และฮว่านง็อกด้วยตัวทำละลายอื่นดังนี้ ในเชื้อ *S.* Anatum group E (strain 1), *S.* Anatum (strain 2) และ *S.* Enteritidis (strain 1) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ได้คือ 0.78% และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ได้มีค่า 1.56% และในเชื้อ *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis (strain 2), *S.* Stanley (strain 1), *S.* Stanley (strain 2) และ *S.* Risen มีค่า MIC 0.78% ค่า MBC 3.13% นอกจากนี้ สารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ Salmonella บางสายพันธุ์เท่ากับสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยน้ำกลั่น ดังนี้ *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis (strain 2), *S.* Stanley (strain 1) และ *S.* Stanley (strain 2) มีค่า MBC 3.13% เป็นต้น

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการสกัดสารในใบฮว่านง็อกและใบพลูด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ดังนี้ น้ำกลั่น สุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. จากการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยน้ำกลั่นสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 0.78 ± 0 และ(MBC) 3.13 ± 0% (ยกเว้นเชื้อ *S.* Anatum (strain 1), *S.* Anatum (strain 2) และ *S.* Enteritidis (strain 1) มีค่า MBC 1.56 ± 0% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลในการยับยั้งและฆ่าเชื้อดีกว่าสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยสุราขาว 40 ดีกรี และเอทานอล 95% ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า สารออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *Salmonella* spp. ในใบฮว่านง็อก มี

ความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่าแอลกอฮอลล์ ซึ่งก็ต้องมีการศึกษาหาสารสำคัญและคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในใบฮว่านง็อกต่อไป สำหรับในใบพลูจากการทดลองพบว่าสารสกัดใบพลูด้วยสุราขาว 40 ดีกรี สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.13 ± 0 และ 6.25 ± 0% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลในการยับยั้งและฆ่าเชื้อดีกว่าสารสกัดใบพลูด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95% ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการสกัดด้วยสุราขาว 40 ดีกรี สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ eugenol ได้ดีกว่าน้ำกลั่น และเมื่อเปรียบเทียบกับเอทานอล 95% อาจจะเป็นเพราะสารเจือปนที่พบได้ในสุราขาว 40 ดีกรี ซึ่งเป็นสุรากลั่น ตามมาตรฐานสุรากลั่นสามารถตรวจพบสารเหล่านี้ได้ เช่น ฟูเซลออยล์ เมธิลแอลกอฮอล์ เฟอร์ฟูรอล ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เอสเทอร์ อะเซทัลดีไฮด์ โซเดียมเบนโซเอท เอทธิลคาร์บาเมท เป็นต้น และอาจมีสารปนเปื้อนมาจากกระบวนการผลิต และอุปกรณ์เครื่องมือ เช่น ไซยาไนต์ โลหะหนัก โดยห้ามเกินเกณฑ์ที่กำหนดไว้ [12]

จากค่า MIC ของใบพลูแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ได้สอดคล้องกับรายงานในปี 2550 [12] ที่พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลู และ eugenol ที่เป็นสารออกฤทธิ์ในใบพลูนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.56 และ 0.39% ตามลำดับ และต่อมาในปี 2551 มีรายงาน [14] พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สาร eugenol สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Risen ที่เก็บตัวอย่างมาจากเนื้อสุกรได้คือ 0.097% และจากการทดลองสรุปว่าสารสกัดใบฮว่านง็อก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยในประเทศเวียดนามว่าสารสกัดใบฮว่านง็อกด้วยเอทิลอะซิเตทและบิวทานอลสามารถต้านเชื้อ *S.* Typhimurium 158 ได้ [8]

สำหรับการศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นของสารสกัดใบฮว่านง็อก และใบพลูกับเชื้อ *Salmonella* spp. ในห้องปฏิบัติการ ถ้าเป็นไปได้ควรศึกษาเพิ่มเติมกับเชื้อซัลโมเนลลา สายพันธุ์อื่นหรือเชื้อแบคทีเรียอื่นที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Campylobacter* spp., *E. coli*, *Staphylococcus* spp. เป็นต้น และควรมีการศึกษาทดสอบเปรียบเทียบกับยาต้านจุลชีพ เช่น ciprofloxacin เพราะเป็นยาที่มีการใช้ทั้งในคนและสัตว์ นอกจากนี้ควรมีการศึกษาหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดใบฮว่านง็อก และใบพลูเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้สมุนไพรเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบุคลากรของภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คุณชัยพร สร้อยคำ และบุคลากรภาควิชาพยาธิชีววิทยา คุณอรุณี บุตรตาสี และบุคลากรภาควิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวก ในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Gomez TM, Motarjemi Y, Miyagawa S, Kaferstein FK, Stohr K. Foodborne salmonellosis. *World Health Stat Q.* 1997;50:81-89.
2. Westrell T, Ciampa N, Boelaert F, Helwigh B, Korsgaard H, Chriel M, et al. Zoonotic infections in Europe in 2007: A summary of the EFSA-ECDC Annual Report. *EUROSURVEILLANCE.* 2009;14(3):1-3.
3. Butt T, Ahmad R, Mahmood M, Zaidi S. Ciprofloxacin treatment failure in typhoid fever case, Pakistan. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:1612-1622.
4. Travers K, Burza M. Morbidity of infections caused by antimicrobial resistant bacteria. *Clin Infect Dis.* 2002;34: S131-S134.
5. Threlfall EL. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella:* problem and perspectives in food and water-borne infectons *FEMS Microb Rev.* 2002;26:141-325
6. Aarestrup FM, Lertworapreecha M, Evan VC, Bangtrakulnonth A, Chalermchaikit T, Hendricksen RS, et al. Antimicrobial susceptibility and occurrence of resistance genes among *Salmonella* enterica serovar Weltevreden from different countries. *J Antimicrob Chem.* 2003;52:715-718.
7. Cruchaga S, Echeita A, Aladuena A, Garcia-Pena J, Frias N, Usera M. Antimicrobial resistance in Salmonella from human, food and animals in Spain in 1998. *J Antimicrob Chem.* 2001;47:315-321.
8. วงศ์สถิตย์ ฉั่วสกุล, และอรัญญา ศรีบุศราคัม. ฮวานง็อก(Hoan-Ngoc) สมุนไพรในกระแส. *จุลสารข้อมูลสมุนไพร.* 2551;25(3):3-6.
9. นันทกาญจน์ สุวรรณปิฎกกุล, วนิดา จันทรเทพเทวัญ, เยาวพา บุญปู่, ประพิมพ์พักตร์ เถื่อนสุคนธ์ และ กฤษณา ไกรสินธุ์. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความคงตัวของน้ำมันพลูกับฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา. *ไทยเภสัชสาร.* 2541;2(1):42-45.
10. JVARM. The determination Method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals (revised standard method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals in 2003). Proceedings of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals. 2004. p.64-74.
11. มาลิน จุลศิริ. ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์. กรุงเทพฯ; 2532.
12. กรมสรรพสามิต. มาตรฐานสุรา. ประกาศกรมสรรพสามิต วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2547.
13. พิมพ์ภัทรา บุญเรืองไพศาล, นุชา สิมะสาธิกุล, ประภาวะดี ไพรินทร์. ดวงพร พิชผลและภาวิน ผดุงทศ. ผลของสารสกัดหยาบจากใบพลูและ Eugenol ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. [ออนไลน์]. สัมมนาวิชาการบัณฑิตศึกษาเกษตรศาสตร์; 2550 [อ้างอิง 25 กันยายน 2551]. Availiable from: http://e-service.agri.cmu.ac.th/download/publication/3048_file.pdf.
14. Simasatibul N, Boonruanghisan P, Pichpol D, Gatphayak K, Padungtod P, Pirintra P, et al. Antibacterial Activity of Standard Eugenol Against *Salmonella* spp. Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development; University of Hohenheim, Germany. Stuttgart:Tropentag. 2008.