RESEARCH ARTICLE

Antibacterial Activity of *Clausena harmandiana* Leaf Extract against Pathogenic Bacteria Isolated from Animals

Arinee Chatchawanchonteera[1*], Jinda Wangboonsakul[2], Thepinthitiya Supakit[3], Morakod Benjamaparinyakul[3], Lalitwadee Numkang[3]

Abstract

Objective—To evaluate antimicrobial activity of *Clausena harmandiana* leaf extracted by ethanol against pathogenic bacteria isolated from animals.

Materials and Methods—*Clausena harmandiana* leaf was extracted by ethanol, and crude extract was tested for antimicrobial activity against 77 isolates of pathogenic bacteria from dogs, fish and pigs, by microdilution broth method. *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and gentamycin were also tested as experimental control. Minimum inhibitory concentration (MIC) and maximum bactericidal concentration (MBC) from each test was determined.

Results—*Clausena harmandiana* leaf extract had antibacterial activity against bacteria isolated from dogs with otitis externa such as *S. aureus*, α-hemolytic Streptococcus, β-hemolytic Streptococcus, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. and bacteria that were isolated from fish such as *S. agalactiae, Aeromonas hydrophila* and also *S. hyicus* which was isolated from swine, with minimal inhibition concentration (MIC) values of 8.33, 20.45, 9.45, 66.67, 68.06, 35.25, 30.47, 83.60, 50.00, 14.54, 28.65, 12.50 mg./ml and minimal bactericidal (MBC) values of 20.96, 23.57, 16.15, 141.67, 161.11, 70.17, 65.63, 118.75, 137.50, 14.54, 37.24 and 12.50 mg./ml, respectively.

Conclusion—Ethanol extract of *Clausena harmandiana* leaf had antibacterial activity against various types of pathogenic bacteria that were isolated from animals. In comparison, MIC and MBC values of Gram positive bacteria groups were significantly lower than those of Gram negative bacteria groups.

KKU Vet J. 2011;21(1):61-68. http://vmj.kku.ac.th/

Keywords: *Clausena harmandiana* leaf; Pathogenic bacteria; Antimicrobial activity; MIC; MBC

[1]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand
[2]Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
[3]Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
[*]**Corresponding author** E-mail: arinee@kku.ac.th

การศึกษาผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดง ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์

อารินี ชัชวาลชลธีระ[1*], จินดา หวังบุญสกุล[2], เทพินฐิติญา ศุภกิจ[3],
มรกต เบญจมปริญญากูล[3], ลลิตวดี น้ำค้าง[3]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดง ซึ่งสกัดด้วยเอธานอล ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์ที่เพาะแยกเชื้อจากสัตว์ป่วย

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ นำสารสกัดหยาบจากใบต้นส่องฟ้าดงที่ได้มาสกัดด้วยเอธานอล เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งและการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 77 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากสุนัข ปลา และสุกร โดยใช้วิธี Microdilution Broth Method ซึ่งมี *E. coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน และเจนตามัยซินเป็นยามาตรฐาน ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้

ผลการศึกษา สารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคช่องหูส่วน นอกอักเสบในสุนัข ได้แก่ *S. aureus*, α-hemolytic Streptococcus, β-hemolytic Streptococcus, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.แบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในปลา *S. agalactiae, Aeromonas hydrophila* และแบคทีเรียที่ก่อโรคในสุกร *S. hyicus* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC)ของแต่ละเชื้อเท่ากับ 8.33, 20.45, 9.45, 66.67, 68.06, 33.36, 83.60, 51.05, 14.54, 12.50, 28.65 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) เท่ากับ 20.96, 23.57, 16.15, 141.67, 161.11, 69.07, 118.75, 97.92, 14.54, 12.50, 37.24 มก./มล. ตามลำดับ

ข้อสรุป สารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด โดยมีค่า MIC และMBC ที่แตกต่างกัน พบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบให้ค่า MIC สูงกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2554;21(1):61-68. http://vmj.kku.ac.th/

คำสำคัญ: ใบต้นส่องฟ้าดง แบคทีเรียก่อโรคในสัตว์ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ค่า MIC และ MBC

[1]ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[2]ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[3]คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[*]**ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ** E-mail: arinee@kku.ac.th

บทนำ

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถก่อโรคได้ในสัตว์หลายชนิด สัตว์ได้รับเชื้อแบคทีเรียทั้งจากการสัมผัสโดยตรง การหายใจ สิ่งขับถ่าย สภาพแวดล้อมต่างๆ ทำให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพร่างกาย และการสร้างผลผลิต ก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกร ตลอดจนอุตสาหกรรมการเกษตรต่างๆ เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์มีหลายชนิด เช่น *Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus, Coliform bacteria, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Corynebacterium* spp., *Peptococcus indiocus, Pseudomonas aeruginosa* ก่อโรคเต้านมอักเสบในโค [1] และเชื้อ *Aeromonas hydrophila, Streptococcus* spp. ทำให้เกิดโรคในปลาและสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังมีเชื้อก่อโรคในสุกร เช่น *Staphylococcus hyicus* เป็นต้น

ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย เกษตรกรเจ้าของฟาร์มมักเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากออกฤทธิ์ได้ในวงกว้าง แต่พบว่าเชื้อบางตัวไม่ตอบสนองต่อการรักษาโดยการใช้ยา นอกจากนี้พบว่ายังก่อให้เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในผลผลิตสัตว์ ได้แก่ น้ำนม ซากและเนื้อสัตว์ เป็นต้น ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และปัญหาที่สำคัญในปัจจุบัน คือ การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เพิ่มมากขึ้น ในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งการรักษาโดยส่วนใหญ่เป็นการให้ยาปฏิชีวนะสอดเข้าทางเต้านมหรือให้ยาทางระบบ

จะเห็นได้ว่า ยาปฏิชีวนะมีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น การตอบสนองต่อการรักษาโดยยาปฏิชีวนะไม่ได้ให้ผลดี การรักษามีค่าใช้จ่ายสูงมาก มีอัตราการดื้อยาสูง มีผลข้างเคียงต่อตัวสัตว์และปัญหาผลตกค้างของยา เป็นต้น จึงได้มีการนำสารสกัดจากสมุนไพรพื้นบ้านที่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพคล้ายกับยาปฏิชีวนะ แต่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ทดแทน เพื่อลดปัญหาการตกค้างและการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย และประกอบกับในปัจจุบันกระแสการกลับมาใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของประชาชนในซีกโลกตะวันตกเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันความนิยมและทัศนคติต่อสมุนไพรไทยของคนไทยก็มีมากขึ้น เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน

ต้นส่องฟ้าดง เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ชาวบ้านนำมาใช้เพื่อประโยชน์ในการรักษาอาการต่างๆ เช่น แก้ไข้ ปวดศีรษะ แก้ผิดสำแดง แก้หลอดลมอักเสบ หรือแก้จุกเสียด นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งอาหารสัตว์ธรรมชาติสำหรับแทะเล็มส่วนยอดและใบของสัตว์ เช่น โค กระบือ และสัตว์ป่า [5] สารสกัดที่ได้จากต้นส่องฟ้าดงคือ coumarins และ carbazoles ซึ่งมีองค์ประกอบได้แก่ สาร heptaphylline, clausine, dentatin และ clausarin โดยสาร heptaphylline, dentatin และ clausarin สามารถต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* [6] ยังพบว่ามีสารสกัดที่ได้จาก *Clausena heptaphylla* คือ coumarins ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย [7]

มีรายงานพบว่า สารสกัดสมุนไพร เช่น กระเทียม ใบฝรั่ง มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์ เช่น เชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งก่อโรคสำคัญในปลาได้ [8] นอกจากนี้มีรายงานการวิจัย

พบว่า เปลือกรากของต้นส่องฟ้าดง มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข เช่น *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus* spp., *Escherichia coli,* และ *Proteus* spp. [9] แต่เนื่องจากการสกัดสารจากรากอาจยุ่งยากกว่าการสกัดสารจากใบ ประกอบกับยังไม่มีข้อมูลการสกัดสารสำคัญจากใบต้นส่องฟ้าดง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อทดสอบฤทธิ์ของใบต้นส่องฟ้าดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์เช่นเดียวกับเปลือกรากของต้นส่องฟ้าดงหรือไม่ เพื่อนำผลไปประยุกต์ใช้ต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและเพาะแยกเชื้อ

เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียและเพาะแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในสัตว์ โดยเพาะแยกลงบน blood agar และ McConkey agar ทำการแยกชนิดและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี จากนั้นเก็บเชื้อไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำใบส่องฟ้าดงมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำมา จำนวน 500 กรัม แช่ใน 70% ethyl alcohol (Analar®,VWR international Ltd.,Thailand) 3 ลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไปประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำการสกัดเช่นนี้ 3 ครั้ง ได้สารสกัดหยาบ นำเก็บในตู้เย็น 5-8 องศาเซลเซียส รอการทดสอบ

การเตรียมสารละลายจากสารสกัดหยาบ

นำสารสกัดหยาบมาชั่งนำหนักใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม ethyl alcohol ลงไปในหลอดทดลอง โดยสารสกัดหยาบ 1 กรัม จะใช้ ethyl alcohol 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 5-10 นาที นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นสารละลาย ใช้กระบอกฉีดยาดูดสารสกัด แล้วกรองด้วยหัวกรองขนาดรูกรอง 0.45 ไมโครเมตร (Whatman®, Ahlstrom, USA) จะได้สารสกัดสีเขียวใส นำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อแบคทีเรียใน Mueller-Hinton Broth (Difco™, Becton Dickinson and Company, USA) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 2 - 4ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland แล้วเจือจาง 1:100 ด้วยน้ำเกลือ จะได้สารละลายแบคทีเรียเข้มข้นประมาณ $1x10^{6}$CFU/ml

การทดสอบสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรีย

นำ Mueller-Hinton Broth ใส่ลงในหลุมที่ 1-15 หลุมละ 50 ไมโครลิตร ส่วนหลุมที่ 16 ใส่

100 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารสกัด 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมแรกของไมโครเพลท แล้วเจือจาง 2 เท่าตามลำดับจนถึงหลุมที่ 14 ส่วนหลุมที่ 15 และ 16 เป็นหลุมควบคุมบวกและลบตามลำดับและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Sigma®, Aldrich, USA) เป็นยาควบคุมมาตรฐาน จากนั้นเติมเชื้อลงในหลุมที่ 1-15 หลุมละ 50 ไมโครลิตร นำไมโครเพลทไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง

การอ่านผล

อ่านผลหลุมที่เชื้อไม่เจริญ บันทึกเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ จากนั้นเพาะเชื้อบน Standard plate count agar (Difco™, Becton Dickinson and Company, USA) เริ่มจากหลุมที่เชื้อไม่เจริญจนถึงหลุมที่ 1 แล้วนำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญบน agar หรือมีเชื้อขึ้นไม่เกิน 5 โคโลนี

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

บันทึกผลและวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ จากตัวอย่างทดสอบ 77 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 5 ซ้ำ จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี ANOVA และวิธี Dancan new multiple range test โดยใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) Version 6.12

ผลการศึกษา

ผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัขจำนวน 66 ไอโซเลต ได้แก่ *S. aureus*, α-hemolytic Streptococcus, β-hemolytic Streptococcus, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. แบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในปลาจำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ *S. agalactiae* 1 ไอโซเลต และ *A. hydrophila* 8 ไอโซเลต แบคทีเรียที่ก่อโรคในสุกร เช่น *S. hyicus* จำนวน 1 ไอโซเลต โดยมี *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25023 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐานในการทดสอบ เปรียบ

Table 1. Minimal Inhibition Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal (MBC) Values of *Clausena harmandiana* Leaf Extract against Some Gram Positive Bacteria

Bacteria	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
	Mean ± SD	Mean ± SD
α-hemolytic Streptococcus	20.45±17.02 [a]	23.57±17.53
Streptococcus agalactiae	14.54	14.54
Staphylococcus hyicus	12.50	12.50
β-hemolytic Streptococcus	9.45±10.22 [ab]	16.15±18.41
Staphylococcus aureus	8.33±7.92 [b]	20.96±12.81

[a,b]Different superscripts indicate significant difference.

Table 2. Minimal Inhibition Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal (MBC) Values of *Clausena harmandiana* Leaf Extract against Some Gram Negative Bacteria

Bacteria	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
	Mean ± SD	Mean ± SD
Klebsiella spp.	83.60±22.89 [a]	118.75±23.94 [ab]
Proteus mirabilis	68.06±25.65 [a]	161.11±44.79 [a]
Escherichia coli	66.67±19.54 [a]	141.67±39.67 [a]
Enterobacter spp.	52.09 ± 2.95 [ab]	112.51±35.35 [ab]
Pseudomanas aeruginosa	35.85±20.25 [bc]	72.22±25.17 [bc]
Pseudomonas spp.	30.47±8.22 [c]	66.15±20.99 [cd]
Aeromonas sobria	29.17 [bc]	45.84 [cd]
Aeromonas hydrophila	27.39±4.78 [c]	36.02±5.20 [d]

[a,b,c]Different superscripts indicate significant difference.

เทียบกับเจนตามัยซิน ผลการทดลองแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดจากใบของต้นส่องฟ้าดงต่อเชื้อแบคทีเรียต่างๆ โดยจัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน ดังแสดงใน **Table 1 และ Table 2** ส่วนผลควบคุมของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25023 และ *E. coli* ATCC 25922 ต่อยาเจนตามัยซินและสารสกัดส่องฟ้าดง ดังแสดงใน **Table 3** ตามลำดับ

Table 3. Minimal Inhibition Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal (MBC) Values (mean± SD) of Gentamicin and *Clausena harmandiana* Leaf Extract against *S. aureus* ATCC 25923 and *E. coli* ATCC 25922

Bacteria	Gentamicin		***Clausena harmandiana* leaf extract**	
	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
Staphylococcus aureus ATCC 25923	3.32±1.18	11.37±11.07	28.17±13.62	52.38±28.73
Escherichia coli ATCC 25922	4.93±0.60	28.65±29.35	60.88±16.29	135.19±16.97

วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข ได้แก่ *S. aureus*, α-hemolytic Streptococcus, β-hemolytic Streptococcus, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ของแต่ละเชื้อเท่ากับ 8.33, 20.45, 9.45, 66.67, 68.06, 33.36, 83.60 และ

51.05 มก./มล. ตามลำดับ แบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในปลา *S. agalactiae, A. hydrophila* แบคทีเรียที่ก่อโรคในสุกร *S. hyicus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 14.54, 12.50 และ 28.65 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกมีค่าต่ำกว่ากลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ สอดคล้องกับการทดลองโดยใช้สารสกัดจากเปลือกรากต้นส่องฟ้าดง [9]

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อของสารสกัดจากใบส่องฟ้าดงต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เปรียบเทียบระหว่างเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่าชนิดของเชื้อมีผลต่อค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P< 0.01$) โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมลบให้ค่าที่สูงกว่า และพบว่าภายในแต่ละกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อของสารสกัดจากใบส่องฟ้าดงมีความแตกต่างกันของบางเชื้อภายในกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P< 0.01$) โดยในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกพบว่าเชื้อแต่ละชนิดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P< 0.01$) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ให้ค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด และเชื้อ α-hemolytic Streptococcus ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด ส่วนในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบพบว่าเชื้อ *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* และ *E. coli* ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเฉลี่ยสูงสุด และเชื้อ *Pseudomonas* spp., *Aeromonas hydrophila* ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเฉลี่ยต่ำสุด นอกจากนี้ จากการวิเคราะห์ข้อมูลหาค่าความเข้มข้นของเจนตามัยซินที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน *S. aureus* และ *E. coli* พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันกับค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดงต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน สารสกัดที่ได้จากต้นส่องฟ้าดงคือ carbazoles alkaloids มีฤทธิ์ยั้งยั้งเอ็นไซม์ protein kinase C และ topoisomerase เป็นผลทำให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอตามมา [10] ทำให้เกิดการทำลายเชื้อ สารสกัดจากส่องฟ้าดงจึงมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในสุนัขและปลาของสารสกัดจากใบต้นส่องฟ้าดง พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดเช่นเดียวกับราก อีกทั้งการสกัดสารจากใบไม่ยุ่งยากเมื่อเทียบกับการสกัดสารจากราก นอกจากนี้ ยังไม่มีรายงานถึงความเป็นพิษของสารสกัดดังกล่าว นับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้สมุนไพรแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ แม้ว่าสารสกัดจากใบส่องฟ้าดงอาจจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าเปลือกราก [8] แต่เนื่องจากสารที่ใช้สกัดต่างกัน จึงไม่สามารถสรุปได้ ควรมีการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเปรียบเทียบกันระหว่างสารสกัดของต้นส่องฟ้าดงทั้งจากใบและเปลือกราก โดยทำการทดลองในสภาวะเดียวกันต่อไป นอกจากนี้จำนวนเชื้อแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบเปรียบเทียบควรมีปริมาณมากขึ้น เพื่อประโยชน์ของข้อมูลในการนำไปประยุกต์ใช้ให้ได้เต็มประสิทธิภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.น.สพ.สุรสิทธิ์ อ้วนพรหมมา หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการทดลอง นางอรุณี บุตรตาสี และนายประพันธ์ แก่นจำปา ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. London: Mosby-Year Book Europe Limited; 1994. P. 327-344.
2. Chuasakul W. Lanna Traditional Medicine. Department of Phamarceutical Botany, Faculty of Phamarceutical Sciences, Mahidol University; 1996. 264p.
3. Yenjai C, Sripontan S, Sriprajun P, Kittakoop P, Jintasirikul A, Tanticharoen M, Thebtaranonth Y. Coumarins and carbazoles with antiplasmodial activity from *Clausena harmandiana. Planta Med.* 2000;69:155-157.
4. Sohrab MH, Mazid E, Rahman MA, Hasan CM, Rashid MA. Antibacterial activity of *Clausena heptaphylla*. Phytochemical Research Laboratory. Faculty of Pharmacy. University of Dhaka. Bangladesh. *Fitoterapia*. 2000;72(5):547-549.
5. Chatchawanchonteera A, Wangboonskul J, Trongwanishnam K, Buttasri A, Borisutpeth P, Sriyamat M, Nampakdee N, Laohawat W. Antimicrobial Activity of Guava Leaf and Garlic Extracts against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus* spp. Isolated from Infected Fish. *KKU Vet J*. 2008;18(1):46-53.
6. Chatchawanchonteera A, Keeratikulapas P, Mungmai N, Chitsanoor S, Boottasri A, Kaenchumpa P, Wangboonsakul J. Antimicrobial Activity of *Clausena harmandiana* Extract Against Bacteria Isolated from Dogs with Otitis Externa. *KKU Vet J*. 2009;19(1):48-55.
7. Yoshida K, Yamaguchi T, Shingawa H, Taira N, Nakayama Kl, Mikil Y. Protein Kinase C activates topoisomerase IIto induce apoptotic cell death in response to DNA damage. *Mol cell Biol.* 2006;45:3414-3431.