

ฤทธิ์ของน้ำมะนาว และน้ำมะกรูดต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคโค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลส ที่แยกได้จากสุนัข

The Activities of *Citrus aurantifolia* and *Citrus hystrix* Juice on Coagulase Positive Staphylococci Isolated from Dogs

พิทยา ภาภิรมย์ (Pittaya Papirom)¹

อรุณี บุตรตาสี (Arune Buttasri)²

วชิราภรณ์ กัมปนาวรรณ (Wachiraporn Kampanawarawan)³

บทคัดย่อ

การศึกษากฤทธิ์ของน้ำมะนาวและน้ำมะกรูดต่อเชื้อกลุ่มสแตปฟีโลคอคโค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ โคแอกกูเลส ที่เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคผิวหนังอักเสบในสุนัขจำนวน 15 ไอโซเลต (isolates) โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว พบว่า น้ำมะนาวและน้ำมะกรูดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มนี้ อยู่ที่ 1.60 % (v/v) และ 1.34-1.74 % (v/v) ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อนี้ อยู่ที่ 1.87-3.33 % (v/v) และ 3.10 % (v/v) ตามลำดับ จากการศึกษาสรุปได้ว่าน้ำมะนาวและน้ำมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อสแตปฟีโลคอคโค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลสได้จากการทดสอบในหลอดทดลอง อย่างไรก็ตาม การนำไปประยุกต์ใช้ในรูปผลิตภัณฑ์สมุนไพรสำหรับสุนัข จะต้องทำการทดสอบกับสุนัขโดยตรงต่อไป

Abstract

The activity of *Citrus aurantifolia* and *Citrus hystrix* juices against 15 isolates of coagulase positive staphylococci (CPS) causing canine dermatitis, was tested by the broth microdilution method. The results revealed the minimal inhibitory concentration (MIC) of both herbal juices were 1.60 % (v/v), and 1.34-1.74 % (v/v), respectively. The minimal bactericidal concentrations (MBC) were 1.87-3.33 % (v/v) and 3.10 % (v/v), respectively. In conclusion, based on the current *in vitro* findings, both herbal juices have activities of inhibitory and bactericidal effects on coagulase positive staphylococci. However further study for application of these herbs in dogs is needed.

คำสำคัญ: มะนาว มะกรูด สแตปฟีโลคอคโค

Keywords: *Citrus aurantifolia*, *Citrus hystrix*, Staphylococci

¹ นักเทคนิคการแพทย์ (ชำนาญการ 8) ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² พนักงานวิทยาศาสตร์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ นักเทคนิคการแพทย์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

แบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังในสุนัขที่สำคัญได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Staphylococcus intermedius* (*S. intermedius*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ โคแอกกูเลส ในจำนวนนี้พบว่า *S. intermedius* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังเกือบจะทุกรายในสุนัข ส่วน *S. aureus* พบเป็นส่วนน้อย (ณรงค์, 2544; Grant, 1991) สอดคล้องกับการศึกษาของ Griffeth et al., (2008) ซึ่งได้ทำการแยกพิสูจน์เชื้อกลุ่มสแตปฟีโลคอคโคที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลสทั้งตัวอย่างจากสุนัขที่มีการอักเสบที่ผิวหนัง และสุนัขที่มีสุขภาพดีพบว่า เป็น *S. intermedius* ถึง 92 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียในกลุ่มสแตปฟีโลคอคโคสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิดซึ่งเป็นกลไกที่ทำให้เกิดโรค เช่น leukocidin เป็นเอนไซม์ที่ยับยั้งการจับกินของเซลล์เม็ดเลือดขาว เอนไซม์ staphylokinase แบคทีเรียจะหลั่งออกมาทำลายไฟบริน (fibrin) เอนไซม์ไลเปส (lipase) จะย่อยกรดไขมันที่ชั้นผิวหนังทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลง ส่วนเอนไซม์ hyarulonidase หรือ spreading factor จากแบคทีเรียจะไปทำลายกรด hyaluronic ทำให้เชือบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อได้เร็วขึ้น และที่สำคัญคือการสร้างเอนไซม์ penicillinnase หรือ β - lactamase ที่มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยากลุ่มเพนิซิลลิน (Carter et al., 1995) *S. intermedius* นอกจากเป็นเชื้อก่อโรคผิวหนังในสุนัขแล้ว พบว่ายังเป็นสาเหตุทำให้เกิดมดลูกอักเสบ (pyometra) หูส่วนนอกอักเสบ (otitis externa) ทั้งในสุนัขและแมว (Quinn et al., 1994) การรักษาอาการติดเชื้อจากแบคทีเรียที่ผิวหนังสุนัขขึ้นอยู่กับบริเวณและลักษณะของการติดเชื้อ *S. aureus* ที่สร้างเอนไซม์ β - lactamase อาจใช้ยาในกลุ่มเพนิซิลลิน ไม่ได้ผล แต่ก็สามารถให้ยาสังเคราะห์พวก methicillin oxacillin และ nafcillin แทน (Carter et al., 1995) ยาปฏิชีวนะที่ให้ผลในการรักษาต่อ *S. intermedius* ได้แก่ oxacillin erythromycin chloramphenicol และ trimethoprim-sulphamethoxazole เป็นต้น (ณรงค์,

2544) ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้รักษาอาจอยู่ในรูปของยาฉีด ยากิน ยาทา หรือผสมในแชมพูอาบน้ำสุนัข ซึ่งยาบางชนิดอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียง เช่น เกิดอาการแพ้ รวมทั้งเกิดการตกค้างทั้งในสภาพแวดล้อมและตัวสัตว์ ซึ่งส่งผลเสียในระยะยาว การแก้ไขปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการวิจัยค้นคว้าทางด้านการใช้สมุนไพรทั้งในอดีตโดยภูมิปัญญาท้องถิ่นและการศึกษาควบคู่ไปกับวิทยาการสมัยใหม่ เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นรวมทั้งยังเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการรักษาอีกทางหนึ่ง ในปัจจุบันได้มีการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้รักษาโรคและการป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์กันมากขึ้น ในการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่อแบคทีเรียต่างๆ ได้มีการทดสอบและวิจัยสมุนไพรหลายชนิด การใช้สมุนไพรในการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์ เช่น การใช้หญ้าวงช้างผสมน้ำตาลแดงในการรักษาโรคเต้านมอักเสบในโคนม การใช้กระเทียมหรือหัวหอมแดงสำหรับรักษาโรคตาเจ็บในวัว ควาย และ การใช้เปลือกกระโดนหรือกล้วยดิบในการรักษาโรคท้องเสียใน วัว และควาย เป็นต้น (กองบำรุงพันธุ์สัตว์, 2546) จากการศึกษาสมุนไพรกว่า 20 ชนิด ของนนทกรณ์ และคณะฯ ในปี พ.ศ. 2546 พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วย 50 % เอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่แยกได้จากลูกสุกรที่มีอาการท้องร่วง โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) อยู่ในช่วง 0.156-0.312 มก./มล. นอกจากการใช้สมุนไพรในแง่ของการรักษาสัตว์ป่วยแล้วยังมีการนำสมุนไพรมาใช้ทดแทนสารเคมีและยาปฏิชีวนะที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศต้องไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีและยาปฏิชีวนะเกินมาตรฐานสากลกำหนด จึงได้มีการวิจัยนำฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่ง ขมิ้นชัน โพล และเปลือกผลมังคุดผสมในอาหารสุกรเพื่อแก้ปัญหาโรคในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งสามารถใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้ผลเป็นที่น่าพอใจในระดับหนึ่ง (ยุทธนา, 2547) ปัจจุบันได้มีการวิจัยผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรเข้มข้นสำหรับโรคผิวหนังอักเสบ

ในสุนัขทั้งในรูปแบบเจล และสเปร์ (http://www.ecovett.com/khaminoil&gel_t.html) อย่างไรก็ตามยังมีสมุนไพรอีกหลายชนิดที่ไม่ทราบฤทธิ์และประโยชน์ของสมุนไพรเหล่านั้นในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังสุนัข แม้ว่าสมุนไพรบางชนิดสามารถใช้ได้ผลในมนุษย์ก็ตามแต่ไม่ได้หมายความว่าใช้ได้ผลในการรักษาในสัตว์ เช่น ในคนมีการใช้น้ำมะนาวและน้ำมะกรูดมาใช้ประโยชน์ได้สารพัด มะนาว (*Citrus aurantifolia* Swing) เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae ชื่อภาษาอังกฤษคือ Lime, Common Lime ส่วนที่ใช้ประโยชน์คือน้ำ และเปลือกผล (วันดี, 2539) น้ำมะนาวมีรสเปรี้ยวเนื่องจากมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดซิตริก (citric acid) และวิตามินซีเป็นส่วนผสม น้ำมะนาวใช้เป็นยาแก้ไอ แก้เจ็บคอ ขับและลดเสมหะ (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2532) นอกจากนี้ น้ำมะนาวยังเป็นสมุนไพรรักษาสิว ลดการอักเสบและระงับการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ลดไขมันบนใบหน้า (วัชรินทร์, 2542) มะกรูดเป็นไม้ผลอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร มะกรูด (*Citrus hystrix* D.C.) เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae เช่นเดียวกับมะนาว ชื่อภาษาอังกฤษคือ Leech Lime หรือ Kaffir Lime หรือ Pocupine orange มะกรูดใช้เป็นเครื่องเทศมานาน ใบมีกลิ่นหอมใช้แต่งกลิ่นอาหาร น้ำมีรสเปรี้ยวจัด (วันดี, 2532) น้ำมะกรูดมีคุณสมบัติในการขจัดรังแค ทำให้ผมตกต่ำ ทำให้ผมนุ่ม ซึ่งมีการพัฒนานำไปผสมใช้ในเครื่องสำอางประเภทแชมพูและครีมนวดผม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2544) คณะผู้วิจัยจึงให้ความสนใจสมุนไพรทั้งสองชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังอักเสบในสุนัข เพื่อเป็นข้อมูลและความรู้สามารถนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงหรือพัฒนาในรูปแบบผลิตภัณฑ์สมุนไพรสำหรับสุนัขต่อไป

วิธีการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างจากสุนัขที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณผิวหนัง ที่มาทำการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ป้ายบริเวณที่คาดว่าจะมีการติดเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณผิวหนัง นำตัวอย่างที่ได้จากการป้ายเชื้อไปเพาะลงในอาหารเพาะเชื้อผสมเลือด (blood agar) นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อ (incubator) ภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเลือกโคโลนี (colony) ที่สงสัยว่าจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มสแตปฟีโลคอคโคไค ไปทำการย้อมสีแกรมเพื่อศึกษารูปร่าง การติดสี ทดสอบทางชีวเคมี ได้แก่ oxidase test, catalase test และ coagulase test (Quinn et al., 1994) นำเชื้อที่ได้เพาะเก็บไว้บน nutrient agar จนกว่าจะทำการทดสอบต่อไป

2. การเตรียมสมุนไพร นำผลมะนาวและผลมะกรูดพันธุ์พื้นเมืองคละขนาดจำนวน 1 กิโลกรัม ผ่าครึ่งลูกบีบเอาเฉพาะส่วนน้ำ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 4–8 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองที่มีขนาดรูกรอง 0.20 ไมโครเมตรใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบต่อไป

3. การเตรียมความเข้มข้นมาตรฐาน 0.5 McFarland

เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียให้มีจำนวน 1.5×10^8 colony forming unit (CFU)/มล. ตามวิธีของ Mahon และ Manuselis, 1995

4. การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรต่อการยับยั้งแบคทีเรีย โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว ใน 96 well U-shape plate (Mahon and Manuselis, 1995) โดยเติม Mueller-Hinton broth (MHB)

จากหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 หลุมละ 50 ไมโครลิตร ส่วนหลุมที่ 12 เติม MHB ลงไป 100 ไมโครลิตร ใน หลุมที่ 1 ของทุกแถวเติมสมุนไพรงไป 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบลดลงสองเท่า (two-fold dilution) ไปจนถึงหลุมที่ 10 แล้วดูดทิ้งไป 50 ไมโครลิตร

5. การเตรียมเจือจางแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ
เตรียม brain heart infusion (BHI) ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 2 มิลลิเมตร. หนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ปลดปล่อยให้เย็น จากนั้นทำการเชื่อมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในหลอด BHI นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรียให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland ทำการเจือจางแบคทีเรียอีกครั้งด้วย MHB ในอัตราส่วน 1: 100 เติมเชื้อที่เจือจางแล้วลงในหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 11 หลุมละ 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยใช้เชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุม

หมายเหตุ หลุมที่ไม่มีผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะมีลักษณะใส ความเข้มข้นของน้ำสมุนไพรมันที่หลุมนี้ถือเป็นค่า MIC (% , v/v)

6. การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรรต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ทำการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรรต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (micro dilution method) ใน 96 well U-shape plate โดยใช้ loop ตะขอเหลวปริมาตร 0.01 มิลลิตร จาก

หลุมที่ใสในแต่ละแถว รวมทั้งหลุมที่แสดงค่า MIC มาเพาะลงบนอาหารผสมเลือด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง การแปลผลค่า MBC คือหลุมที่ไม่มีแบคทีเรียเจริญหรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (99.9 % ถูกฆ่า) (มาลิน, 2532)

ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่าง เพาะและแยกพิสูจน์ชนิดของเชื้อแบคทีเรียจากผิวหนังสุนัข ที่เข้ามาทำการศึกษาที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะผู้วิจัยได้เลือกแบคทีเรียกลุ่ม coagulase positive Staphylococci (CPS) จำนวน 15 ไอโซเลต (isolates) โดยมี *S. aureus* ATCC 25923 สายพันธุ์มาตรฐานเป็นเชื้อควบคุม ทำการทดสอบควบคุมไปด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว พบว่า น้ำมะนาวมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด ในการยับยั้ง และ ฆ่าเชื้ออยู่ที่ 1.6 % (v/v) และ 1.87-3.33 % (v/v) ตามลำดับ ส่วนน้ำมะกรูดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง และ ฆ่าเชื้อ อยู่ที่ 1.34-1.74 % (v/v) และ 3.1% (v/v) ตามลำดับ ในขณะที่การทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์มาตรฐาน พบว่าน้ำมะนาวมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้ออยู่ที่ 3.1 % (v/v) และ 12.5 % (v/v) ตามลำดับ และน้ำมะกรูดมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้ออยู่ที่ 6.3 % (v/v) และ 12.5 % (v/v) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1. ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันขาวและน้ำมันมะกรูด ต่อเชื้อ CPS

แบคทีเรีย	น้ำมันขาว		น้ำมันมะกรูด	
	MIC (%, v/v)	MBC (%, v/v)	MIC (%, v/v)	MBC (%, v/v)
Coagulase positive staphylococci (CPS)	1.60	1.87-3.33	1.34-1.74	3.10
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	3.10	12.50	6.30	12.50

สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาทำให้ทราบฤทธิ์ของน้ำมันขาว และน้ำมันมะกรูดต่อเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม CPS ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังในสุนัข โดยน้ำมันขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ที่ 1.6 % (v/v) และฆ่าเชื้ออยู่ที่ 1.87-3.33 % (v/v) และน้ำมันมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโต อยู่ที่ 1.34-1.74 % (v/v) และฆ่าเชื้ออยู่ที่ 3.1 % (v/v) เมื่อเทียบกับค่า MIC และ MBC ของเชื้อมาตรฐานจากความเข้มข้นของสมุนไพรทั้งสองชนิดแล้วพบว่า เชื้อ CPS ที่แยกได้จากสุนัขในครั้งนี้อยู่มีความไวต่อสมุนไพรมากกว่าเชื้อมาตรฐาน ซึ่งสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรทั้งสองชนิดยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าเกิดจากสารชนิดใด และมีปัจจัยใดเกี่ยวข้องอย่างเด่นชัด จากการศึกษาของ Belletti et al., (2004) ได้สกัดและวิเคราะห์ สารสกัดจากพืชตระกูล Citrus พบว่าสารออกฤทธิ์ที่มีความเข้มข้นสูงสุดเรียงตามลำดับได้แก่ β -pimene, *P*-cymene และ Citral isomers ซึ่ง β -pimene ที่พบมีปริมาณประมาณ 20% ในสารสกัดจากน้ำมันขาว พบว่าสารนี้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.coli* 0157-H7 นอกจากนี้ bicyclic terpenes, α และ β -pimene ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งยีสต์ และเชื้อราหลายชนิด จากการศึกษาของ Onyeagba et al., (2004) พบว่าน้ำมันขาวมีฤทธิ์ต้าน *S. aureus*, *Bacillus* spp., *E.coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งเชื้อทั้งหมดไวต่อน้ำมันขาวเข้มข้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากกระเทียม และขิง

ด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนผสมของน้ำมันขาวกับกระเทียม และน้ำมันขาวกับขิงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดได้ดีกว่าการใช้สมุนไพรเพียงชนิดเดียว และจากการศึกษาของ สาวิตรี และคณะ, (2005) โดยการสำรวจและทดสอบหาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และต้านอนุมูลอิสระ ของสมุนไพรทั้งหมด 15 ชนิด โดยวิธีการกระจายตัวในวุ้น (agar diffusion test) พบว่ามะกรูดและมะนาว มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิก โดยมีความกว้างของวงทดสอบประมาณ 0.83 0.06 และ 0.87 0.12 เซนติเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ น้ำสมุนไพรทั้งสองชนิดยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีความกว้างของวงทดสอบอยู่ที่ 1.30 0.1 และ 1.47 0.06 ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Taiwo et al.,(2007) ที่ Ladoke Akintola University Teaching Hospital, Osogbo ประเทศไนจีเรียโดยการแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในคนจำนวน 5 ชนิด จำนวน 53 ไอโซเลต ได้แก่ *Staphylococcus* sp. (27) *Escherichai coli* (15) *Klebsiella* sp. (3) *Proteus* sp. (4) และ *Pseudomonas* sp. (4) โดยวิธี disk diffusion พบว่าน้ำมันขาวปริมาณ 20 ไมโครลิตร มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ดังนั้นจะเห็นว่า ได้มีการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันขาวและน้ำมันมะกรูดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการติดเชื้อในคนมาก่อน อย่างไรก็ตามเนื่องจากมะนาว รวมทั้งน้ำมันมะกรูด

มีรสชาดเปรี้ยว และมีความเป็นกรดสูงเนื่องจากมีกรดอินทรีย์อยู่ในน้ำมันชาด้วยกันหลายชนิด เช่น กรดซิตริก กรดโอลิก กรดปาล์มิติก และวิตามินซี เป็นต้น (วันดี, 2539; Farnsworth and Bunyapraphatsara, 1992) อาจมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอีกปัจจัยหนึ่ง เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในครั้งนี้ ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของน้ำมันชา และน้ำมันกระตือรือร้น ในการยับยั้งการเจริญเติบโต และฆ่าเชื้อ CPS ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปพิจารณาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทางการค้า ที่ใช้สำหรับสัตว์ต่อไป เพื่อลดการติดเชื้อทางผิวหนัง อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดลองในการใช้กับสัตว์โดยตรงก่อน เพื่อศึกษาผลข้างเคียงอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อกรยับยั้งเชื้อและผลต่อตัวสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์. 2546. สมุนไพรทางเลือกใหม่สำหรับการเลี้ยงวัว-ควาย. *เกษตรกรรมธรรมชาติ*. (9) : 36 - 41.

ณรงค์ กิจพาณิชย์. 2544. โรคผิวหนังสุนัข. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่นการพิมพ์ ขอนแก่น

มาลิน จุลศิริ. 2532. ยาดานจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์. โรงพิมพ์อักษรบัณฑิต กรุงเทพฯ

นนทรณ์ อรุโสมณ ปาจารย์ ทองเอก วัชรพงษ์ วัฒนกุล อารี วัฒนรัตน์ และอินทร์ ศาลางาม. การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ อี.โคไล ชนิดก่อโรคในทางเดินอาหาร. *สัตวแพทยสาร*. 5 (1-2): 27-37.

ยุทธนา ติริวัธนนุกูล. 2547. การวิจัยผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรสมุนไพรเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค. การประชุมสัมมนา วิชาการเกษตรแห่งชาติ 27-28 มกราคม 2547 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 51 - 68.

วัชรพร คงวิลาด. 2542. ผิวสวยด้วยสมุนไพร. *เกษตรกรรมธรรมชาติ*. 9 : 45 - 46

วันดี กฤษณพันธ์. 2539. *สมุนไพรสารพัดประโยชน์*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2544. สมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง. *เกษตรกรรมธรรมชาติ*. 5: หน้า 27 - 30.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงสาธารณสุข. 2532. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก. กรุงเทพฯ

สาวิตรี คงเจริญสุนทร นิพนธ์ ชมโอสถ วิรัชมา จินตามล จิราภรณ์ อารยะศิลาประธ ปรานี ชะรัตรัมย์ สุวีวัลย์ อุ๋น อารมณ และ อารยา พิทยประเสริฐกุล. 2005. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18-20 October 2005.

Belletti, N., Ndagijimana, M., Sisto C., Guerzoni, M.E., Lauciotti, R. and Gardini, F. 2004. Evaluation of the antimicrobial activity of Citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agri. Food. Chem.* 52: 6932-6938.

Carter, G.R., Chengappa, M.M., Robert, A.W., Claus, G.W. and Rikihisa, Y. 1995. *Essentials of Veterinary Microbiology*. 5th edition. Williams & Wilkins. USA.

Farnsworth, N.R., and Bunyapraphatsara, N. 1992. *Thai Medical Plants*. Prachachon. Co.Ltd. Bangkok.

Grant, D.I. 1991. *Skin disease in the dog and cat*. 2nd edition. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

Griffeth, G.C., Morris, D.O., Abraham, J.L., Shofer, F.S and Rankin, S.C. 2008. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dog with healthy

- and inflamed skin. **Vet.Dermatol.** 19(3): 142-149.
- Mahon, C.R. and Manuselis, G. 1995. **Diagnostic Microbiology.** W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Onyeagba, R.A., Ugbogu, O.C., Okeke, C.U. and Iroakasi,o. 2004. Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn, ginger (*Zingiber officinale* Roscor) and lime (*Citrus aurantifolia*). **Afr. J. Biotech.** 3(10): 552-554.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K. and Carter, G.R. 1994. **Clinical Veterinary Microbiology** Mosby Year Book. London.
- Taiwo, S.S., Oyekanmi, B.A, Adesiji, Y.O., Opaleye, O.O and Adeyeba, O.A. 2007. *In vitro* Antimicrobial activity of crude extract of *Citrus aurantifolia* Linn and *Tithonia diversifolia* Poaceae on clinical bacterial isolates. **Int. J. Trop.** 2(4):113-117.
- http://www.ecovett.com/khaminoil&gel_t.html