การศึกษาเปรียบเทียบผลของจุลินทรีย์ อี เอ็ม และน้ำส้มควันไม้ต่อการยับยั้งเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* ในหลอดทดลอง

In Vitro Comparative Study of Effective Microorganisms (EMs) and Wood Vinegar as Inhibitors for *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis*

นริศร นางาม (Narisorn Na-ngam)[1]*
ฐิติมา นุตราวงศ์ (Thitima Nutravong)[2]
พิณซอ กรมรัตนาพร (Pinsaw Kromratanaphorn)[3]

บทคัดย่อ

จุลินทรีย์ อี เอ็ม ซึ่งหมักที่ 15 วัน ได้ทำการตรวจเช็คปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบน Standard plate agar เท่ากับ 1.38 x 10^{11} เซลล์/มล. ความเข้มข้นจุลินทรีย์ อี เอ็ม ตั้งแต่ร้อยละ 10 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบ *Burkholderia pseudomallei* หลังใส่เชื้อไปแล้วในวันที่ 0 และความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบนี้ได้หลังใส่เชื้อไปแล้ว 1 วัน สำหรับเชื้อ *B. thailandensis* ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 20 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบ *B. thailandensis* หลังใส่เชื้อลงในวันที่ 0 และความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบนี้หลังใส่เชื้อไปแล้ว 1 วัน น้ำส้มควันไม้พบว่าความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบ *B. thailandensis* และ *B. pseudomallei* หลังใส่เชื้อลงไปในวันที่ 0 สำหรับ pH ของจุลินทรีย์ อี เอ็มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, และ 100.0 มีค่าเท่ากับ 7.30, 6.33, 5.67, 5.32, 5.13, 4.74, 4.41 และ 3.72 ตามลำดับ และ pH ของน้ำส้มควันไม้เท่ากับ 7.07, 6.15, 5.88, 5.67, 5.31, 5.09, 4.70 และ3.47 ตามลำดับ ผลจากการทดลองนี้แสดงว่าทั้งจุลินทรีย์ อี เอ็มและน้ำส้มควันไม้สามารถกำจัดเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* ในหลอดทดลองได้

[1]*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2]*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[3]*นักวิชาการเกษตร สถานีฟาร์ม คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
**corresponding author, e-mail: narnan@kku.ac.th*

Abstract

Effective Microorganism (EM) fermentation at 15 days showed total microorganism counts of 1.38 x 10^{11} cfu/ml. EMs had an upper concentration level of 10%. *Burkholderia pseudomallei* could not be isolated from all samples after inoculation of organisms on day 0 and a concentration upper level of 5% while pathogens could not be isolated from all samples after inoculating organisms on day 1. In addition, with EM concentration upper level of 20% *B. thailandensis* could not be isolated from all samples after adding organisms on day 0 while at a concentration upper level of 5%, this bacterium could not be detected after adding organisms on day 1. The pHs of EM dilutions at 0%, 5%, 10%, 20%, 40%, 50%, 70%, and 100% were 7.30, 6.33, 5.67, 5.32, 5.13, 4.74, 4.41 and 3.72, respectively. The pHs of equivalent Wood Vinegar dilutions were 7.07, 6.15, 5.88, 5.67, 5.31, 5.09, 4.70 and 3.47, respectively. Finally, we would say that both EMs and Wood Vinegar had a strong effect for killing *B. pseudomallei* and *B. thailandensis in vitro*.

คำสำคัญ: *Burkholderia pseudomallei* จุลินทรีย์ อี เอ็ม น้ำส้มควันไม้

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, effective microorganisms, wood vinegar

บทนำ

โรคเมลิออยโดสีสเกิดทั้งในคนและสัตว์มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งเป็น Saprophytic bacteria พบอยู่ทั่วไปในดินและน้ำของถิ่นระบาดของโรคมีทั้ง Arbinose positive (Ara+) คือ *B. thailandensis* และ Arabinose negative (Ara-) คือ *B. pseudomallei* แต่เชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยด้วยโรคเมลิออยโดสีส มักเป็นชนิด Ara- (Gilmore et al., 2007) เชื้อมีชีวิตอยู่ในน้ำที่อุณหภูมิห้องได้นาน 8 สัปดาห์ ในโคลนตมที่มีน้ำท่วมขังได้นาน 7 เดือน ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4°C) มีชีวิตอยู่นานหลายเดือน และเจริญที่ pH 4.5-8 ที่อุณหภูมิ 15-42°C ในดินที่มีปริมาณน้ำร้อยละ 10 ทำให้เชื้อมีชีวิตอยู่ได้ถึง 70 วัน (Blood et al., 1983; Tong et al., 1996) โรคนี้กระจายอยู่ทั่วไปทั้งในคนและสัตว์ในเขตร้อน โดยเฉพาะในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ เวียดนาม ลาว และกัมพูชา เป็นต้น โรคเมลิออยโดสีส เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทยโรคหนึ่งซึ่งมีผู้ป่วยในแต่ละปีประมาณ 2,000-3,000 ราย พบอุบัติการณ์โรคสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีอัตราส่วนผู้ป่วย 137.9/100,000 คน โรงพยาบาลศูนย์สรรพสิทธิประสงค์ จังหวัดอุบลราชธานี พบผู้ป่วยปีละ 150-170 คน พบโรคมากในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือน พ.ค.-มิ.ย. ถึงร้อยละ 75 ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็น ชาวนา-ชาวไร่ ที่ต้องสัมผัสกับดินและน้ำเป็นประจำ เชื่อว่าเชื้อเข้าสู่ร่างกายทางผิวหนังที่เป็นแผลหรือรอยถลอก การกินเชื้อที่ปนเปื้อนอาหารและน้ำ การหายใจ และทางเพศสัมพันธ์ (Leelarasamee, 2000; Vuddhakul et al., 1999)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ หรือจุลินทรีย์ อี เอ็ม ประกอบด้วย กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน กลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน กลุ่มเชื้อรา และกลุ่มของยีสต์ รวมกันมากกว่า 80 ชนิด ชนิดของ อี เอ็ม ที่สำคัญคือ จะมีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus casei, L. brugaricus* และ *Streptococcus lactis* เป็นส่วนใหญ่และผลิตกรดแลคติก ที่เหลือจะเป็นพวกจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง เชื้อรารูปเส้นใย และยีสต์ มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงดินจากนำโรคไปเป็นสภาพที่ต้านทานโรค โดยการช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชต่างๆ ลง และทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวน

นอกจากนี้ยังเร่งการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุและป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็น นอกจากนี้จุลินทรีย์ อี เอ็ม ที่ผสมกับ 30 % เอธานอล น้ำส้มสายชู 5% และกากน้ำตาล สามารถป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ด้วย (http://science.rin.ac.th/clinictech/em.html) น้ำส้มควันไม้เป็นผลผลิตที่ได้จากการเผาถ่าน มีลักษณะของน้ำส้มควันไม้เป็นของเหลวสีน้ำตาลใส มีกลิ่นควันไฟชิมดูจะมีรสเปรี้ยว เนื่องจากสภาพความเป็นกรด โดยของเหลวนี้จะผลิตได้จากการควบแน่นควันไฟที่เกิดขึ้นในขณะที่ไม้ฟืนกำลังเปลี่ยนเป็นถ่านในเตาเผา สารประกอบต่าง ๆ ในไม้ฟืนจะถูกความร้อนสลายตัวทำให้เกิดเป็นสารประกอบใหม่อันเป็นประโยชน์ในหลาย ๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นการปลูกพืช การเลี้ยงสัตว์ หรือการนำไปใช้งานในโรงงานอุตสาหกรรม และโดยเฉพะในด้านปศุสัตว์จะใช้ในการลดกลิ่นและแมลงในฟาร์มปศุสัตว์ และยังสามารถใช้ผสมอาหารสัตว์เพื่อช่วยการย่อยอาหารและป้องกันโรคท้องเสีย มีรายงานการใช้น้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน 2 มล. ผสมกับน้ำ 50 มล. แล้วน้ำไปผสมอาหาร 1 กก. เพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์ปีก ผลปรากฏว่าสัตว์ปีกเจริญเติบโตได้ดี (คำสิงห์, 2548) ประเสริฐ, 2548 ใช้น้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน 30 มล. ต่อน้ำ 20 ล. ฉีดพ่นบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ปีก 15 วันต่อครั้ง ทำให้ตัวพยาธิภายนอกไก่หายไป และคอกสัตว์สะอาดไม่มีกลิ่นเหม็นทำให้สัตว์ปีมีสุขภาพดีขึ้น และจิระพงษ์, 2548 ใช้น้ำส้มควันไม้ผสมอาหารเพื่อใช้เลี้ยงเป็ดและไก่เนื้อในอัตราส่วน 0.7%-0.8% พบว่าสัตว์มีสุขภาพดีและลดปัญหาโรคในระบบทางเดินอาหารได้

เชื้อ *B. pseudomallei* พบอยู่ทั่วไปในดินและน้ำ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย การศึกษาวิจัยครั้งนี้มุ่งจะศึกษาระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ อี เอ็ม และน้ำส้มควันไม้เพื่อปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมของดินนาของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อแสดงหาความรู้เพื่อประยุกต์ใช้ในการควบคุมป้องกันและกำจัดเชื้อโรคเมลิออยโดสีสในสิ่งแวดล้อมในระยะต่อไป

วิธีการศึกษา

1. เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ อี เอ็ม

จัดหาจุลินทรีย์อี เอ็ม ซึ่งมีขายตามท้องตลาด ผู้วิจัยเลือกซื้อจากบริษัทคิวเซ จำกัด ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Azotobactor* sp., *Mycorrhizae* sp., *Lactobacillus casei*, *L. brugaricus*, *Streptococcus lactis* และอื่น ๆ โดยผสมในสัดส่วน อี เอ็ม: กากน้ำตาล: น้ำส้มสายชู 5%: เหล้าขาว 40 ดีกรี: น้ำสะอาด เท่ากับ 1: 1: 1: 1: 10 ส่วนตามลำดับ แล้วหมักในภาชนะปิด 15 วัน และตรวจวิเคราะห์หาจำนวน จุลินทรีย์รวมด้วยวิธี Standard plate counts ก่อนนำมาใช้

2. เตรียมน้ำส้มควันไม้

ผู้วิจัยได้ผลิตขึ้นมาเองโดยอาศัยเตาเผาถ่านที่สถานีฟาร์มฝึกนักศึกษา อ. วังสะพุง จ. เลย เริ่มโดยทำการจุดไฟไล่ความชื้นออกจากไม้ใช้เวลาประมาณ 1.5-2 ชั่วโมง เมื่อความร้อนสูงขึ้นไปถึงจุดที่เรียกว่าเตาติดไม้มันเริ่มรักษาอุณหภูมิในตัวมันเอง ควันจะเริ่มออกมาเต็มปากปล่อง สีของควันเป็นสีขาวขุ่นปนเหลืองหรือนุ่นเก่า ซึ่งจะออกมาประมาณ 15 นาที หยุดป้อนเชื้อเพลิงหน้าเตา ทำการหรี่เตา เพื่อควบคุมอากาศ เมื่อควันจางลงหรืออุณหภูมิปากปล่องประมาณ 80°C เริ่มเก็บน้ำส้มควันไม้ได้โดยนำกระบอกไม้ไผ่แขวนขึ้นทำมุม 45 องศากับปากปล่อง แล้วนำผ้าชุบน้ำมาพันไว้รอบรอยต่อระหว่างกระบอกไม้ไผ่และปากท่อ จากนั้นให้นำขวดน้ำผูกลวดแขวนรองน้ำส้มควันไม้ตรงจุดที่เจาะรูไว้ จะสามารถเก็บน้ำส้มควันไม้ได้ประมาณ 3-4 ชั่วโมง ซึ่งเมื่ออุณหภูมิในเตาประมาณ 400 °C ทาร์จะเริ่มออกจากไม้ น้ำที่หยดลงมาจะมีลักษณะเป็นยางเหนียวและมีสีดำให้หยุดเก็บและเอากระบอกไม้ไผ่ออก

น้ำส้มควันไม้ที่ได้จากการเผาถ่านด้วยเตา 200 ลิตร 1 ถังมีปริมาณ 1-2 ลิตร ซึ่งน้ำส้มควันไม้ที่ดีค่า pH จะอยู่ที่ 3-3.5 ความถ่วงจำเพาะอยู่ที่ 1.007-1.0024 ก่อนนำไปใช้ต้องทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 3 เดือน จะเกิดการแยกเป็น 3 ส่วน ชั้นล่างเป็นน้ำมันดิน มีลักษณะเหนียว ตรงกลางจะเป็นน้ำส้มควันไม้ ส่วนชั้นบน

จะเป็นคราบน้ำมันให้นำส่วนที่เป็นน้ำส้มควันไม้มาใช้ การเก็บรักษาน้ำส้มควันไม้เก็บในภาชนะทึบไม่โดนแสง หรือเก็บในอุณหภูมิห้องที่ทึบแสง

3. เตรียมตัวอย่างเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis*

เชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ. ฐิติมา นุตราวงศ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยนำเชื้อทั้งสองเพาะขยายเชื้อใน Threonine basal salt solution-Cistein 20 (TBSS-C20) ที่ 37°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำคำนวณหาความเข้มข้นของเชื้อเพื่อเตรียมทดลองโดยใช้มาเทียบความขุ่นตามวิธี McFarland method (Kolmer and Boerner, 1945) ให้ได้ความเข้มข้น 1 x 10^{10} เซลล์/มล. โดยทำละลายเจือจางใน 0.1% peptone water

4. ทดสอบประสิทธิผลของจุลินทรีย์ อี เอ็ม และน้ำส้มควันไม้ต่อการทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis*

ใส่เชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* ขนาด 1 x 10^{10} เซลล์/มล. ลงในขวดทดลองขนาด 250 มล. ที่มีจุลินทรีย์ อี เอ็ม หรือน้ำส้มควันไม้ปริมาตร 200 มล. ความเข้มข้น 0%, 5%, 10%, 20%, 40%, 50%, 70% และ 100% ตามลำดับ โดยใช้ปริมาณเป็นอัตราส่วนเชื้อต่อสารละลายเจือจางของจุลินทรีย์ อี เอ็ม หรือน้ำส้มควัน เท่ากับ 1 : 5 แล้วเขย่าผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่าง 3 มล. เพื่อนำไปเพาะหาเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* ในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และสัปดาห์ละครั้ง และทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างจะวัด pH ทุกครั้งด้วย

5. วิธีตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ pH meter วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของจุลินทรีย์ อี เอ็ม และน้ำส้มควันไม้ สำหรับการตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei* และและ *B. thailandensis* จากตัวอย่าง โดยใช้ Selective media TBSS-C 20 และ Asdown's agar ตามวิธีของ Wuthiekanun *et al*., 1995 การประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูลจากแบบบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีการเพาะแยกเชื้อทางจุลชีววิทยา

6. ขอบเขตของการวิจัย

จุลินทรีย์ อี เอ็ม ที่นำมาทดลองในครั้งนี้เป็นชนิดน้ำของบริษัท คิว เซ จำกัด มีจำนวนจุลินทรีย์รวม (หมัก 15 วัน) 1.38 x 10^{11} เซลล์/มล. และ pH 3.72 ส่วนน้ำส้มควันไม้ผู้วิจัยได้ผลิตขึ้นมาเองแล้วนำมาเตรียมสำหรับการทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันใน 0.1% peptone water ที่ร้อยละ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, และ 100.0 ตามลำดับ และใช้เชื้อ *B. pseudomallei* และและ *B. thailandensis* ขนาด 1x 10^{10} เซลล์/มล. ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ. ฐิติมา นุตราวงศ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกตัวอย่างนำไปตรวจแยกหาเชื้อทางจุลชีววิทยา ที่ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูลโดยอาศัยแบบบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีการเพาะแยกเชื้อทางจุลชีววิทยา

ผลการวิจัย และอภิปรายผล

จุลินทรีย์ อี เอ็ม ซึ่งหมักที่ 15 วัน ได้ทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์รวมเท่ากับ 1.38 x 10^{11} เซลล์/มล. และ pH 3.72 (ตารางที่ 1) ส่วนน้ำส้มควันไม้มี pH 3.47 (ตารางที่ 2) จากการทดสอบผลของจุลินทรีย์ อี เอ็ม ต่อการยับยั้งเชื้อ พบว่าจุลินทรีย์ อี เอ็ม ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 10 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* หลังใส่เชื้อไปแล้วในวันที่ 0 และความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* หลังใส่เชื้อลงไปแล้ว 1 วัน (ตารางที่ 3) ส่วนเชื้อ *B. thailandensis* จุลินทรีย์ อี เอ็ม ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 20 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบ *B. thailandensis* หลังใส่เชื้อลงไปแล้วในวันที่ 0 และความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป ไม่สามารถตรวจพบนี้หลังใส่เชื้อลงไปแล้ว 1 วัน (ตารางที่ 4) สำหรับ pH ของจุลินทรีย์ อี เอ็มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.1, 0.5, 1.0,

5.0, 10.0, 20.0, 50.0, และ 100.0 มีค่าเท่ากับ 7.30, 6.33, 5.67, 5.32, 5.13, 4.74, 4.41 และ3.72 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนน้ำส้มควันไม้พบว่าความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ5 ขึ้นไปไม่สามารถตรวจพบทั้งเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* หลังใส่เชื้อทั้งสองลงไปในวันที่ 0 และ pH ของน้ำส้มควันไม้เท่ากับ 7.07, 6.15, 5.88, 5.67, 5.31, 5.09, 4.70 และ 3.47 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

กลไกการยับยั้งเชื้อของจุลินทรีย์ อี เอ็ม หมักอาจเนื่องมาจากการผลิตกรดออกมาจนทำให้เกิดสภาพไม่เหมาะสมต่อดำรงชีพของ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* นอกจากนี้ จุลินทรีย์ อี เอ็ม ซึ่งมีจำนวนมากกว่ามีการแย่งใช้สารอาหารและขับถ่ายของเสียออกมาซึ่งอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและไม่สามารถมีชีวิตอยู่ในสภาพดังกล่าวได้ สำหรับน้ำส้มควันไม้มีกรดอินทรีย์อยู่ประมาณ 3% ที่สำคัญคือ กรดอะซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิค (กรดมด) ฟอร์มาลดิไฮด์ (formaldehyde) เมทธานอล (methanol) และฟีนอล (phenol) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัสได้ ดังนั้นน้ำส้มควันไม้จึงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* (http://www.chuasin.com) นอกจากนี้ Watarai, 2005 ได้ทดลองใช้ผงถ่านร่วมกับการใช้น้ำส้มควันไม้โดยผสมในอาหารให้ไก่กิน เพื่อศึกษาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Salmonella enterica* serovar Enteritidis พบว่าหลังไก่ได้รับอาหารที่มีผงถ่านและน้ำส้มควันไม้แล้วเป็นเวลา 10 วัน มีการตรวจพบเชื้อ *S.* Enteritidis ในปริมาณที่น้อยลงและไม่พบเชื้อนี้เลยเมื่อตรวจหลังเวลาผ่านไป 15 วัน มีรายงานการศึกษาการใช้จุลินทรีย์ อี เอ็ม ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Enteritidis พบว่า อี เอ็ม ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5% ระยะเวลา 1 ชั่วโมงจึงมีผลทำให้ทำลายเชื้อนี้ใน 0.1% peptone water และความเข้มข้น 100% ระยะเวลา 30 นาที จึงจะสามารถทำลายเชื้อนี้ในอุจจาระไก่ได้ (นริศร และคณะ, 2549) มีรายงานการศึกษาการใช้ปูนขาวร้อยละ10 สามารถทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* ใน 0.1% peptone water และปูนขาวความเข้มข้นร้อยละ 40 ผสมในดินนา สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ (Na-ngam et al., 2004) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการใช้คลอรีนในการฆ่าเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากสัตว์ป่วยและผู้ป่วยด้วยโรคเมลิออยสีส (Chaita et al., 2004)

สรุปผลการศึกษา

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าทั้งจุลินทรีย์ อี เอ็ม และน้ำส้มควันไม้มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและทำลายทั้ง *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* โดยจุลินทรีย์ อี เอ็ม ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 10 และ 5 ขึ้นไป มีผลต่อการยับยั้งและกำจัด *B. pseudomallei* ในวันที่ 0 และ 24 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ ตามลำดับ ส่วน *B. thailandensis* พบว่าจุลินทรีย์ อี เอ็ม ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 20 และ 5 ขึ้นไป มีผลต่อการยับยั้งและกำจัด *B. thailandensis* ในวันที่ 0 และ 24 ชั่วโมงหลังการใส่เชื้อ ตามลำดับ แม้ว่า *B. thailandensis* และ *B. pseudomallei* สามารถทนต่อจุลินทรีย์ อี เอ็ม ได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 5 ในวันที่ 0 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในระยะเวลา 24 ชั่วโมงถัดมาไม่สามารถตรวจพบเชื้อทั้งสองได้ สำหรับน้ำส้มควันไม้ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป มีผลต่อการยับยั้งและกำจัด *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* หลังใส่เชื้อในวันที่ 0 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าน้ำส้มควันไม้มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ดีกว่าจุลินทรีย์ อี เอ็ม ผลการศึกษาในครั้งนี้น่าจะมีประโยชน์ในระยะต่อไปคือการนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดหรือลดจำนวนเชื้อพวกนี้ในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในถิ่นระบาดของโรคเมลิออยโดสีสได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่นที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยครั้งในครั้งนี้ และคุณพิทักษ์ น้อยเมล์ ที่อนุเคราะห์ข้อมูลน้ำส้มควันไม้

ตารางที่ 1. แสดง pH ของจุลินทรีย์ อี เอ็ม

วันที่	ความเข้มข้น อี เอ็ม (%)							
	0	5	10	20	40	50	70	100
0	7.30	6.33	5.67	5.32	5.13	4.74	4.41	3.72
1	7.25	6.22	5.69	5.31	5.16	4.68	4.36	3.69
2	7.27	6.29	5.72	5.33	5.05	4.67	4.37	3.69
3	7.29	6.24	5.71	5.36	5.17	4.70	4.37	3.65
4	7.30	6.37	5.81	5.40	5.21	4.75	4.38	3.73
5	7.26	6.31	5.74	5.35	5.11	4.79	4.40	3.66

ตารางที่ 2. แสดง pH ของน้ำส้มควันไม้

วันที่	ความเข้มข้นน้ำส้มควันไม้ (%)							
	0	5	10	20	40	50	70	100
0	7.07	6.15	5.88	5.67	5.31	5.09	4.70	3.47
1	7.00	6.12	5.90	5.71	5.33	5.08	4.73	3.48
2	7.15	6.25	5.94	5.72	5.37	5.10	4.75	3.46
3	7.10	6.06	5.93	5.74	5.32	5.05	4.77	3.45
4	7.08	6.09	5.95	5.73	5.25	5.10	4.75	3.46
5	7.05	6.14	5.91	5.71	5.24	5.09	4.78	3.49

ตารางที่ 3. ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากตัวอย่างที่มีจุลินทรีย์ อี เอ็ม ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

วันที่	ความเข้มข้น อี เอ็ม (%)							
	0	5	10	20	40	50	70	100
0	+	+	–	–	–	–	–	–
1	+	–	–	–	–	–	–	–
2	+	–	–	–	–	–	–	–
3	+	–	–	–	–	–	–	–
4	+	–	–	–	–	–	–	–
5	+	–	–	–	–	–	–	–

หมายเหตุ + = found pathogens – = not detection

ตารางที่ 4. ผลการแยกเชื้อ *B. thailandensis* จากตัวอย่างที่มีจุลินทรีย์ อี เอ็ม ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

วันที่	ความเข้มข้น อี เอ็ม (%)							
	0	5	10	20	40	50	70	100
0	+	+	+	–	–	–	–	–
1	+	–	–	–	–	–	–	–
2	+	–	–	–	–	–	–	–
3	+	–	–	–	–	–	–	–
4	+	–	–	–	–	–	–	–
5	+	–	–	–	–	–	–	–

หมายเหตุ + = found pathogens – = not detection

ตารางที่ 5. ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* จากตัวอย่างที่มีน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

วันที่	ความเข้มข้น น้ำส้มควันไม้ (%)							
	0	5	10	20	40	50	70	100
0	+	–	–	–	–	–	–	–
1	+	–	–	–	–	–	–	–
2	+	–	–	–	–	–	–	–
3	+	–	–	–	–	–	–	–
4	+	–	–	–	–	–	–	–
5	+	–	–	–	–	–	–	–

หมายเหตุ + = found pathogens – = not detection

เอกสารอ้างอิง

คำสิงห์ อ่อนพันธ์. 2548. **การใช้น้ำส้มควันไม้กับปศุสัตว์.** เกษตรกรรมธรรมชาติ. พหลโยธิน, พญาไท, กรุงเทพฯ. 72 น.

จิระพงษ์ คูหากาญจน์. 2548. **การใช้น้ำส้มควันไม้กับปศุสัตว์.** เกษตรกรรมธรรมชาติ. พหลโยธิน, พญาไท, กรุงเทพฯ. 72 น.

นริศร นางาม วสันต์ จันทรสนิท และพิทักษ์ น้อย เมล์. 2549. การศึกษาประสิทธิผลของ อี เอ็ม ต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลา เอ็นทิไรติดีส. **วารสารวิจัย มข.** 11(4): 281-286.

ประเสริฐ ยวงแก้ว. 2548. **การใช้น้ำส้มควันไม้กับปศุสัตว์.** เกษตรกรรมธรรมชาติ. พหลโยธิน, พญาไท, กรุงเทพฯ. 72 น.

สมาคมเทคโนโลยีที่เหมาะสม. 2548. **ประโยชน์ วิธีใช้และวิธีทำน้ำส้มควันไม้.** เกษตรกรรมธรรมชาติ. พหลโยธิน, พญาไท, กรุงเทพฯ. 72 น.

Blood, D.C., Radostits, O.M., and Henderson, J.A. 1983. **Melioidosis.** Veterinary Medicine: A Text Book of the Diseases of Cattle, Sheep, Goats and Horses, 6thed. Bailliere Tindall,England. 568 p.

Chaita, T., Ankittitrakul, S., Wanitjiewaphan, K., Hanond, P., Kongthaworn, A., and Trakarnthai, K. 2004. Minimum concentration of chlorine against *Burkholderia pseudomallei* from human and animal isolates. **10th Asean conference in medical laboratory technology, April 26-30, Lotus Hotel Pang Suan Kae, Chiang Mai Proceeding.** 267-273 pp.

Gilmore, G., Barnes, J., Ketheesan, N., and Norton, R. 2007. Use of Antigens Derived from *Burkholderia pseudomallei*, *B. thailandensis*, and *B. cepacia* in the Indirect Hemagglutination Assay for Melioidosis. **Clin Vaccine Immunol.** 14 (11): 1529-1531.

Kolmer, J. A., and F. Boerner, F. 1945. **Approved laboratory technic,** 4th ed. Appleton-Century-rofts, Inc., New York. 495 p.

Leelarasamee, A. 2000. Melioidosis in Southeast Asia. **Acta Trop.** 74: 129-132.

Na-ngam, N., Angkititakul, S., Noimay, P., and Thamlikitkul, V. 2004. The effect of quicklime (calcium oxide) as an inhibitor of *Burkholderia pseudomallei*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 98: 337-341.

Smith, M.D., Wuthiekanun., Walsh. A.L., and White, N.J. 1995. Qantitative recovery of *Burkholderia pseudomallei* from soil in Thailand. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 89: 488-490.

Tong, S., Yang, S., Lu, Z., and He, W. 1996. Laboratory investigation of ecological factors influencing the environmental presence of *Burkholderia pseudomallei*. **J. Microbiol. Immunol.** 40:451-453.

Vuddhakul, V., Tharavichitkul, P., Na-ngam, N., Jitsurong, S., Kunthawa, B., Noimay, P., Noimay, P.P., Binla, A. and Thamalikitkul, V. 1999. Epidemiology of *Burkholderia pseudomallei* in Thailand. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 60(3): 458-461.

Watarai, S. and Tana. 2005. Eliminating the carriage of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in domestic fowls by feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid. **Poult. Sci.** 84(4): 515-521.

Wuthiekanun, V. Smith, M.D. Dance, D.A.B. and White, N.J. 1995. Isolation of *Pseudomonas pseudomallei* from soil in North-eastern of Thailand. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 89: 41-43.