Ubon Rajathanee university

การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ อี. โคไล ในลูกสุกร

A Study on the Efficiency of Thai Herbs on *Enteropathogenic Escherichia coli* Inhibition in Piglet.

โดย

นนทกรณ์ อุรโสภณ

ปาจารีย์ ทองงอก

วัชรพงษ์ วัฒนกูล

อารี วังมณีรัตน์

อินทร์ ศาลางาม

คณะเกษตรศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ทุนอุดหนุนเพื่อการวิจัย สำนักงบประมาณ

ประจำปี 2543

รหัสโครงการ 04102856 – 0008

ISBN 974- 609- 087- 9

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

กิตติกรรมประกาศ

คณะทำงานขอแสดงความขอบคุณต่อ สพ.ญ.สุจิรา ปาจริยานนท์ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำวิจัย น.สพ.พรชลิต อัศวชีพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยแยกเชื้อ อี. โคไล ซีโรไทป์ K 88 น.ส. ศิริพร จันทน์โรจน์ และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่เอื้อเฟื้อเชื้อ อี. โคไล

ขอขอบคุณ น.ส.กรชนก บุญพอและนายนาวิน วิสาพล นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และเจ้าหน้าที่สำนักงานไร่ฝึกทดลองและห้องปฏิบัติการกลาง สำนักงานเลขานุการ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย และท้ายที่สุดคณะทำงานใคร่ขอขอบคุณสำนักงบประมาณ ที่ได้ให้การสนับสนุนเงินวิจัยหมวดอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2543 ซึ่งทำให้งานวิจัยในครั้งนี้ประสบความสำเร็จด้วยดี

ขอขอบคุณ
คณะทำการวิจัย

เลขหมู่ วว SF๘๙๗ ก๖๖๙ ค.2
เลขทะเบียน ๓๙๒๖๖๑๐
วัน-เดือน-ปี 21 ก.พ. 2545

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ อี.โคไล ในลูกสุกร

นนทกรณ์ อุรโสภณ[1/] ปาจารีย์ ทองงอก[2/] วัชรพงษ์ วัฒนกูล[1/] อารี วังมณีรัตน์[2/]และอินทร์ ศาลางาม[3/]

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* (อี.โคไล) ของส่วนสกัดหยาบซึ่งสกัดโดย 50 % เอธานอล และตามด้วยการสกัดโดยน้ำ ของสมุนไพร 20 ชนิด คือ หูปลาช่อน, หญ้าดอกขาว, ขมิ้นชัน, โด่ไม่รู้ล้ม, หญ้าพันงูขาว, ผักกะสัง, พลับพลึงดอกขาว, ฟ้าทะลายโจร, โทงเทง, ฝรั่ง, ดาวเรือง, พลู, สาบเสือ, หญ้าแห้วหมู, ลูกใต้ใบ, บานไม่รู้โรยดอกขาว, จำปี, น้ำนมราชสีห์, กว่าตายหางงายเป็น และผักเป็ด โดยวิธี Paper disc diffusion พบว่าส่วนสกัดหยาบจากน้ำที่ได้ทั้งหมดไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตราฐาน คือ DMST 2797, 4121, 4212, 4554, 4741, 4744 และ DMST 4818 ที่ใช้ทดสอบ แต่ส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอล ที่ความเข้มข้น 10,000 µg/disc จากฝรั่ง พลู และลูกใต้ใบ แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์มาตราฐาน โดยส่วนสกัดหยาบจากใบพลูแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดใกล้เคียงกับยา Gentamicin 10 µg/disc และยังแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากลูกสุกรที่มีอาการท้องร่วง 9 ตัว รวมทั้งซีโรไทป์ K88 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใสเท่ากับ 16.20 – 27.80 มม. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ อยู่ในช่วง 1.5625 – 3.125 mg/ml

จากการศึกษาการใช้พลูป่นแห้งผสมอาหารในอัตราส่วนพลูป่นต่ออาหาร 1:400, 1:800 และ 1:1,200 เพื่อป้องกันโรคอุจจาระร่วงจากการให้ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88 ความเข้มข้น 30 x 10^8 เซลล์/มล. จำนวน 40 มล. ในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านมพบว่าความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงในสัปดาห์ที่ 1-3 และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และปริมาณการกินอาหารต่อตัวต่อสัปดาห์ในสัปดาห์ที่ 1-4 ภายหลังหย่านมในกลุ่มที่ให้พลูป่น และกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) ความเผ็ดร้อนของพลูป่นอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้ลูกสุกรกินได้ลดลง

คำสำคัญ: ลูกสุกร, สมุนไพร, อี.โคไล

[1/] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

[2/] คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

[3/] สำนักงานไร่ฝึกทดลอง และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

Abstract

A Study on the Efficiency of Thai Herbs on *Enteropathogenic Escherichia coli* Inhibition in piglets.

Nontakorn Urasopon[1] Pajaree Tongngok[2] Watcharapong Wattanakul[1] Aree Wangmaneerat[2] and Intr Salargam[3]

A study on the efficiency of 20 Thai herbs on *Enteropathogenic Escherichia coli* inhibition in piglet was conducted. These herbs were *Emilia sonchifolia* Linn.DC, *Vernonia cinerea*(Linn.)Less, *Curcuma longa* Linn., *Elephantopus scaber* Linn., *Achranthes aspera* Linn., *Peperomai pellucida* (Linn.) Kunth., *Cirnum asiaticum* Linn., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees., *Physalis mimima* Linn., *Psidium guajava* Linn., *Tagetes erecta* Linn., *Piper betle* Linn., *Eupatorium odeoratum* Linn., *Cyperus rotundus* Linn., *Phyllanthus niruri* Thw. *Gomphrena globosa* Linn., *Michelia alba* DC., *Euphorbia hirta* Linn., *Kalanchoe pinnata* (LamK.) Pers., and *Alternanthera triandra* Lamk. The first study used crude water and ethanolic extracts from the herbs and tested their antimicrobial sensitivity by the paper disc diffusion technique. The study revealed that all crude water extracts could not inhibit the growth of *Escherichia coli* DMST 2797, 4121, 4212, 4554, 4741, 4744 and DMST 4818. However, crude 50 % ethanolic extracts of *Psidium guajava*., *Piper betel*. and *Phyllanthus niruri*. tested against the bacteriums. The ethanolic extract of *Piper betel*. have the best result which was equal to gentamicin antibiotic [10μg/disc]. The extract also inhibited *E.coli* activity which separated from piglet's diarrhea and *Enteropathogenic E.coli* (K88), with a minimal inhibitory concentration (MIC) of 1.5625 – 3.125 mg/ml. The second study used dry *Piper betel. mixed* with piglet feed in the ratio of 0, 1:400, 1:800 and 1:1200 and this was fed for three weeks to the treatment piglets. The treatment piglets were inoculated with *Enteropathogenic E.coli* (K88) 30 x 10^8 cell/ml at 40 ml each on day 5 and 6 following weaning while the control piglets were not. Piglet performance and sign of diarrhea tested between treatments and control were not significantly different. *Piper betel*. is very spicy and hot and this may effect the intake of feed to the piglets.

Key word: Piglet, Herb, *E.coli*

[1] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Thailand.

[2] Faculty of Phramaceutical Medicince, Ubon Ratchathani University, Thailand.

[3] The Office of Field Experimentation and Central laboratory, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Thailand.

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

สารบัญเรื่อง

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... III
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....IV
สารบัญตาราง.....VI
สารบัญรูปภาพ.....VII
บทนำ.....1
อุปกรณ์และวิธีการ.....2
ผลการทดลอง..... 10
วิจารณ์.....25
สรุปและข้อเสนอแนะ.....26
เอกสารอ้างอิง.....27

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของพืชสมุนไพร 20 ชนิด.....10

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล และส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร.....12

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร 20 ชนิด.....14

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลของพืชสมุนไพร 20 ชนิด.....15

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง ของส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอลของพลู.....16

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอลของพลู ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง.....17

ตารางที่ 7 แสดงระยะเวลา และสาเหตุการตายของลูกสุกรแต่ละกลุ่มทดลอง.....19

ตารางที่ 8 ค่าคะแนนอาการอุจจาระร่วงกระจายตามวันที่ และสุกรในแต่ละกลุ่มทดลอง.....20

ตารางที่ 9 แสดงค่า pH ของอุจจาระลูกสุกรกระจายตามระดับความรุนแรงของระดับอาการอุจจาระร่วง.....22

ตารางที่ 10 แสดงค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัม) ของสุกรแต่ละตัวในแต่ละการทดลองแยกตามสัปดาห์ที่ 1-4.....23

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณอาหาร (กรัม) ที่สุกรกินแต่ละสัปดาห์ต่อตัว.....24

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนการสกัดสมุนไพร โดยวิธี percolation.....3

รูปที่ 2 Clear zone ของส่วนสกัดหยาบ ตัวทำละลายและยาปฏิชีวนะ.....7

รูปที่ 3 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตราฐาน และเชื้อที่แยกได้จากลูกสุกรที่อาการอุจจาระร่วง.....18

รูปที่ 4 : A. สุกรปกติ B. สุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงเป็นน้ำ ซูบปานกลาง (ค่าคะแนน=3) C. สุกรอุจจาระร่วงรุนแรง มีภาวะ dehydration มาก (ค่าคะแนน=4) D. สุกรอุจจาระร่วง ตาจมลึก มีภาวะ dehydration รุนแรง ตาย E. ลำไส้เล็กมีภาวะ hyperaemia และการอักเสบ.....21

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ อี.โคไล (*E. coli*) ในลูกสุกร

โดย

นนทกรณ์ อุรโสภณ ปาจารีย์ ทองงอก วัชรพงษ์ วัฒนกูล อารี วังมณีรัตน์ และอินทร์ ศาลางาม

บทนำ

ปัญหาการผลิตสุกรทั้งในอดีตและปัจจุบัน พบว่าสาเหตุสำคัญที่ทำให้ลูกสุกรตายก่อนหย่านมมากเป็นอันดับสอง ได้แก่โรคอุจจาระร่วง โดยพบว่า 48 เปอร์เซ็นต์ของโรคติดเชื้อที่ก่อให้เกิดกลุ่มอาการอุจจาระร่วง มีเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นสาเหตุที่สำคัญ (ประกาส, 2540) เชื้อ อี.โคไล *(E.coli)* สามารถพบเป็นปัญหาสำคัญสำหรับลูกสุกรตั้งแต่แรกเกิดจนถึงหลังหย่านม 1-2 สัปดาห์ พบเป็นปัญหามากในฟาร์มที่ระบบการจัดการแม่สุกรช่วงก่อนและหลังคลอดไม่ค่อยดี และลูกสุกรจะได้รับเชื้อโดยตรงจากแม่หรือจากเชื้อที่สะสมอยู่ในคอกคลอดโดยการกินเข้าไป นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอย่างปัจจุบันโดยเฉพาะเรื่องของอุณหภูมิ ความชื้น และอาหารจะเพิ่มความไวต่อการติดเชื้อของลูกสุกร และจะเพิ่มความรุนแรงของโรคมากขึ้น (กิจจา, 2535)

เชื้อ อี.โคไล เป็นเชื้อแกรมลบ รูปร่างเป็น rod หรือ coccobacillus ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด ให้โคโลนีขนาด 3-5 มิลลิเมตรภายใน 24 ชั่วโมง โคโลนีเป็นสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mac Conkey agar และบางชนิด Haemolysis เม็ดเลือดบน Blood agar ได้ ปกติแล้วเชื้อนี้จะอาศัยอยู่ที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายและลำไส้ใหญ่ของสุกร ชนิดของเชื้อที่ก่อโรคส่วนใหญ่จะเป็นซีโรไทป์ O141, O149 และ K88 (Taylor, 1989) รายงานการตรวจแยกเชื้อจากลูกสุกรที่มีอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำพบ *E. coli* ซีโรไทป์ K88 ในลูกสุกรหลังหย่านมถึง 56 เปอร์เซ็นต์จากตัวอย่าง (n=66) (คัมภีร์ และคณะ, 2530)

ปัจจุบันมีการใช้ยารักษาและป้องกันการเกิดอุจจาระร่วงในสุกรกันอย่างแพร่หลาย ทั้งในรูปยาฉีด,ยาละลายน้ำ และยาผสมอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ (สมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์สำหรับสัตว์, 2535) การดื้อยาของเชื้อ (Antimicrobial Resistance) สามารถเกิดขึ้นได้เช่นเดียวกับเชื้อชนิดอื่นๆ (Taylor, 1989) ปัญหาการตกค้างของยา ซึ่งมีผลต่อผู้บริโภคทั้งในด้านการแพ้ยา เชื้อดื้อยา และการได้รับเป็นเวลานาน ๆ อาจมีผลให้เกิดมะเร็งได้ (มาลินี, 2522)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่อุดมไปด้วยพืชสมุนไพรหลายชนิด รวมทั้งพืชสมุนไพรที่ใช้ในการบำบัดรักษาอาการอุจจาระร่วงในคน เช่น ฝรั่ง (Psidium guajava Linn.), ฟ้าทะลายโจร (Andrographis paniculata Wall.ex Nees.), มะเดื่อไทย (Ficus spp.), บานไม่รู้โรยดอกขาว (Gomphrena globosa), ทับทิม (Punica granatum Linn), ขมิ้นชัน (Curcuma longa Linn.), ตำลายหงายเป็น (Kalanchoe pinnata Pers.) เป็นต้น พืชสมุนไพรเหล่านี้ถ้ามีการศึกษาเพื่อพัฒนาเทคนิคการเตรียม และการใช้ให้สะดวกปลอดภัย และ

Ubon Rajathanee university

ได้ผลสำหรับใช้ในสัตว์ก็จะเป็นหนทางหนึ่งในการลดความฟุ่มเฟือยและป้องกันการขาดแคลนยาแผนปัจจุบันในอนาคต (พะยอม, 2524; สุนทรี, 2536 ; วุฒิ, 2540 และมาลี และสุธิดา, 2540) ทั้งนี้ในสัตว์ นฤมล และคณะ (2534) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารลิกแนนที่สกัดจากเปลือกยางบง 4 ชนิดคือ เซซามิน, อีพิยูเคสมีน, ยูเคสมีนและฟิลีจีนิน ซึ่งพบว่าไม่สามารถหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียมาตราฐานและเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากสัตว์ปีกที่ป่วยตายและเชื้ออี.โคไล ส่วนในสุกรนั้นการวิจัยทางด้านเภสัชวิทยานับจากปี 2526-2538 มีการวิจัยน้อยเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (นลินีและคณะ, 2539)

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของส่วนสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อเชื้อ อี.โคไล ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในลูกสุกร เปรียบเทียบกับยา Gentamicin
2. เพื่อศึกษาหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในลูกสุกร
3. เพื่อศึกษาผลเบื้องต้นของสมุนไพรในการป้องกัน และรักษาโรคอุจจาระร่วงในลูกสุกร

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

1. การหาพืชสมุนไพรที่ได้ผลในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ในห้องปฏิบัติการ
2. การนำผลเข้าทดสอบในลูกสุกรในฟาร์มทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาพืชสมุนไพรที่ได้ผลในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล

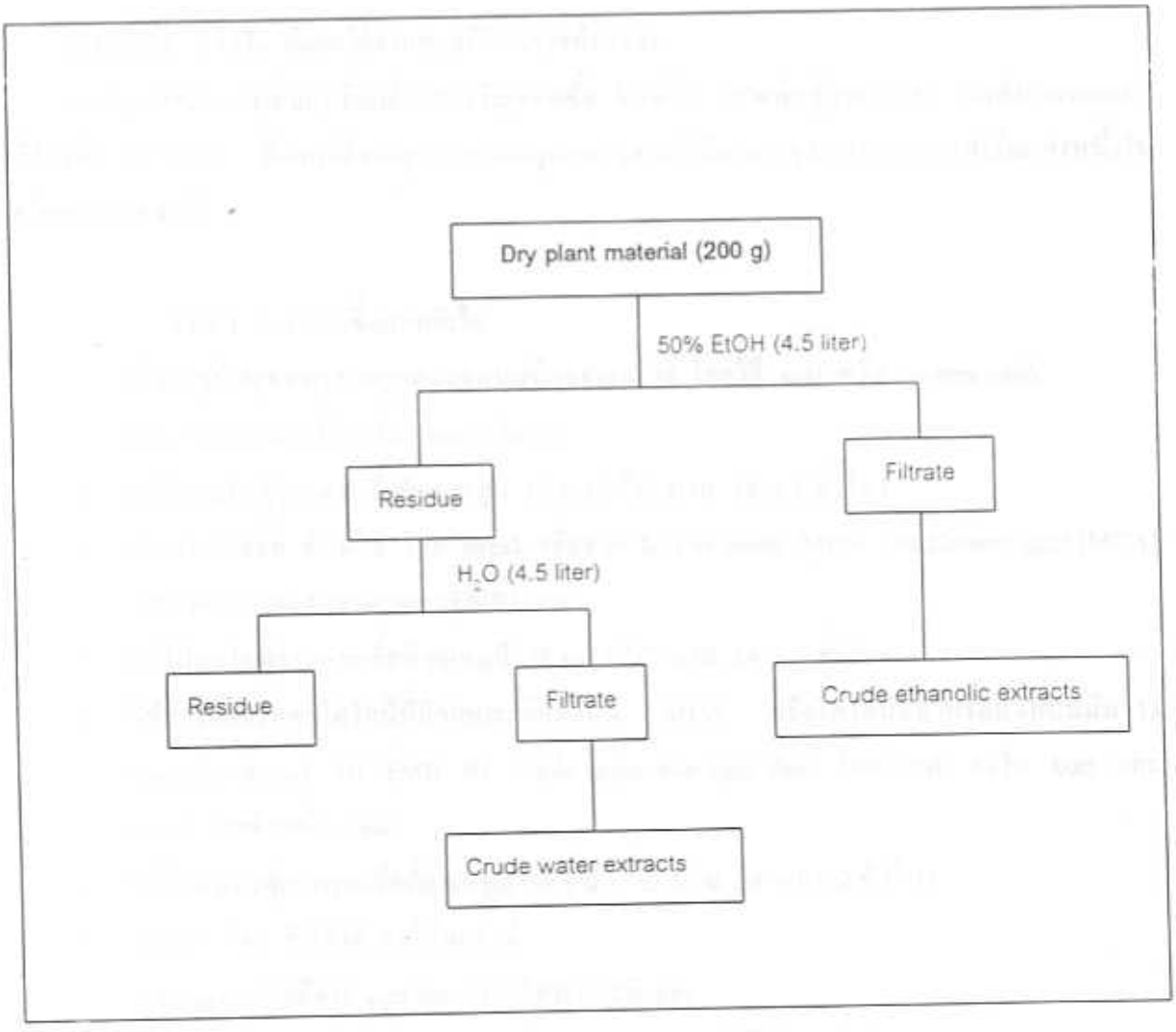
1. การเตรียมส่วนสกัดหยาบจากสมุนไพร

1.1 การเตรียมพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรทั้ง 20 ชนิดในงานวิจัยนี้ ได้เก็บรวบรวมในเขตอำเภอวารินชำราบ และอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในช่วงเดือนธันวาคม 2542 ถึง เดือนเมษายน 2543 โดยเก็บเฉพาะส่วนที่มีสรรพคุณทางยา นำพืชสมุนไพรทำเป็นตัวอย่างพืชแห้ง (voucher specimen) รวบรวมไว้ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี นำพืชสมุนไพรมาล้างทำความสะอาด บันทึกน้ำหนักสด หลังจากนั้นอบสมุนไพรที่ 50-55 ^{0}C จนแห้ง บันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้ หลังจากนั้นลดขนาดสมุนไพรโดยการบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร จนได้ขนาดผงสมุนไพรผ่านแร่งขนาดเบอร์ 80 เก็บผงสมุนไพรที่ได้ในภาชนะแห้ง ปิดสนิท

1.2 การสกัดพืชสมุนไพร

ชั่งผงพืชสมุนไพรมาประมาณ 200 กรัม สกัดโดยวิธี percolation ด้วย 50% เอธานอล ปริมาณ 4.5 ลิตร ใน percolator หมักสมุนไพรเป็นเวลา 24 ชั่งโมง แล้วไขส่วนน้ำยาสกัด (filtrate) ออกจาก percolator นำน้ำยาสกัดไประเหยตัวทำละลายออก ภายใต้การลดความดันบรรยากาศด้วยเครื่อง rotary evaporator จนได้ส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล (crude ethanolic extract) บันทึกน้ำหนักส่วนสกัดที่ได้ ส่วนกากสมุนไพร (residue) ที่เหลือ ทำการสกัดต่อด้วยน้ำปริมาณ 4.5 ลิตร โดยทำเช่นเดียวกับการสกัดครั้งแรก จนได้ส่วนสกัดหยาบจากน้ำ (crude water extract) บันทึกน้ำหนักที่ได้ (ขั้นตอนการสกัดดังแสดงในรูปที่ 1) บันทึกข้อมูลทั้งหมด



รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนการสกัดสมุนไพร โดยวิธี percolation

Ubon Rajathanee university

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย อี.โคไล ด้วยวิธี Disc diffusion

2.1 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

2.1.1 เชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐาน 7 สายพันธุ์

ได้รับเชื้อจากฝ่ายบักเตรีทั่วไป สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้แก่ Enteropathogenic *Escherichia coli* DMST 2797, DMST 4121, DMST 4212, DMST 4554, DMST 4741, DMST 4744 และ DMST 4818.

2.1.2 เชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง

นำส่วนสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐาน มาทำการทดสอบฤทธิ์ในเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากอุจจาระของลูกสุกรดูดนมที่มีอาการอุจจาระร่วงจากฟาร์มแห่งหนึ่งในจังหวัดอุบลราชธานี

2.1.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรีย

1. เก็บตัวอย่างอุจจาระจากลูกสุกรดูดนมที่อุจจาระร่วง โดยวิธี anal หรือ rectum swab
2. นำ cotton swab ใส่ลงใน lactose broth
3. นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5\ ^{\circ}C$ นาน 24 ± 2 ชั่วโมง
4. ทำการแยกเชื้อ อี.โคไล โดย streak เชื้อจาก lactose broth ลงบน MacConkey agar (MCA) และ Eosine methylene blue (EMB) agar
5. นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5\ ^{\circ}C$ นาน 24 ± 2 ชั่วโมง
6. ใช้ห่วงโลหะแตะโคโลนีที่มีลักษณะสีแดงบน MCA หรือโคโลนีสีดำหรือม่วงเป็นมันวาว (metallic sheen) บน EMB ลง Triple sugar iron agar slant โดย stab ลงใน butt และ streak บนผิวหน้า slant
7. นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5\ ^{\circ}C$ นาน $24 - 48 \pm 2$ ชั่วโมง
8. อ่านผล โดย อี.โคไล จะให้ผลดังนี้

   acid slant (สีเหลือง) acid butt (สีเหลือง) และมี gas
9. ใช้เข็มโลหะแตะเชื้อที่ให้ผลดังกล่าวไป ทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

   9.1 การย้อมสีแกรม จะมีลักษณะเป็นแกรมลบ รูปแท่งสั้นๆ ไม่มีสปอร์

   9.2 ทดสอบ IMViC test ซึ่งจะให้ผลทดสอบ คือ ++--

Ubon Rajathanee university

1) Indole test

-ถ่ายเชื้อจาก TSI agar slant ลงในหลอดทดสอบที่บรรจุ 1% Tryptone broth อยู่ 2 มล และควรทำหลอดควบคุมไว้เปรียบเทียบผลด้วย

-นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่ 35±2 °ซ เป็นเวลา 48±2 ชม.

-เติม Kovacs' reagent ลงในหลอดทดลอง 5 หยด เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้

-อ่านผลหลังจากทิ้งไว้ 15 นาที

ผลบวก เกิดสีแดงบริเวณส่วนบนของหลอด

ผลลบ ไม่เกิดสีแดงบริเวณส่วนบนของหลอด

2) Methyl red test

-ถ่ายเชื้อจาก TSI agar slant ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ MR-VP medium อยู่ 2.5 มล.

-นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่ 35±2 °ซ เป็นเวลา 48±2 ชม.

-เติม Methyl red indicator ลงไป 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน

-อ่านผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีเหลืองหรือส้ม

3) Voges-Proskauer test

-ถ่ายเชื้อจาก TSI agar slant ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ MR-VP medium อยู่ 2.5 มล.

-นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่ 35±2 °ซ เป็นเวลา 48±2 ชม.

-เติม Barritt's reagent A ลงไป 6 หยด เขย่าหลังจากนั้นเติม Barritt's reagent B ลงไป 2 หยดเขย่าให้เข้ากัน

-อ่านผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีชมพู ส้ม หรือแดง

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีเหลือง

4) Citrate test

-ถ่ายเชื้อจาก TSI agar slant ลงใน Simmon citrate agar slant โดย stab ลงไปที่ก้นหลอดแล้ว strack บนผิวหน้าของ slant

-นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อที่ 35±2 °ซ เป็นเวลา 48±2 ชม.

-อ่านผล

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีเขียว

2.1.2.2 การทดสอบเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88

นำเชื้อ อี.โคไล ที่ผ่านการทดสอบทางชีวเคมี มาทดสอบสายพันธุ์ โดยใช้วิธี agglutination test เพื่อแยกเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller ninton agar : MHA
2. Trytic soy broth : TSB
3. Trytic soy agar :TSA

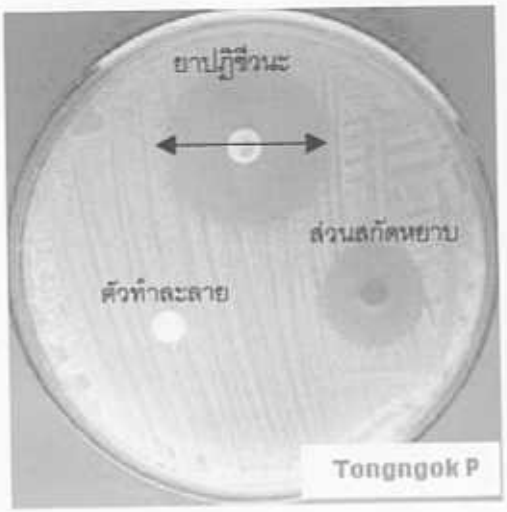
2.3 อุปกรณ์

1. Paper disc
2. Micropipette
3. Cotton swab
4. Forcep
5. Gentamicin antibiotic disc 10 μg/disc
6. Incubator

2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ด้วยวิธี Disc diffusion (พจนีย์ และคณะ, 2530)

1. เตรียมส่วนสกัดหยาบมาละลายโดยใช้น้ำหรือ 50% เอธานอล ให้ได้ความเข้มข้น 200 mg/ml
2. เตรียมเชื้อโดยปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ McFarland No. 0.5
3. ใช้ Cotton swab จุ่มเชื้อ streak ลงบน MHA 3 ระนาบ
4. Pipette ส่วนสกัดหยาบ, ตัวทำละลาย (Control) ลงบน paper disc โดยจะแบ่ง pipette 2 ครั้ง ครั้งแรก pipette 25 μl ปล่อยให้แห้งแล้วหยดซ้ำอีก 25 μl ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของส่วนสกัด 10,000 μg/disc
5. วาง Paper disc ที่มีส่วนสกัดหยาบ, ตัวทำละลาย หรือ Gentamicin ลงบน plate ตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปบ่มเพาะโดยเชื้อแบคทีเรียบ่มเพาะที่ 37 °C 24 ชั่วโมง
6. อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้นดังรูปที่ 1 ซึ่งแสดงว่า สารนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ นำผลที่ได้จากการทำซ้ำ 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ย บันทึกผลที่ได้

Ubon Rajathanee university



รูปที่ 2 Clear zone ของส่วนสกัดหยาบ ตัวทำละลายและยาปฏิชีวนะ

2.5 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

เลือกส่วนสกัดหยาบที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของที่ดีที่สุด มาทดสอบหาค่า MIC โดยวิธี Agar dilution test

1. นำส่วนสกัดหยาบมาละลายด้วยด้วยน้ำหรือ 50% ethanol ให้ได้ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78 และ 0.39 mg/ml
2. ผสมส่วนสกัดแต่ละความเข้มข้นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ ส่วนสกัด 1 ส่วนต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9 ส่วน เทลงใน petri dish
3. Pipette เชื้อ 1 µl แตะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้จำนวนเชื้อประมาณ 1×10^4 ตัว ทิ้งไว้ให้เชื้อซึมเข้าไปในอาหาร
4. นำไปบ่มเพาะโดยเชื้อแบคทีเรียบ่มเพาะที่ 37 °C 24 ± 2 ชั่วโมง
5. อ่านค่า MIC โดยที่ความเข้มข้นนี้จะต้องมีเชื้อขึ้นไม่เกิน 5 โคโลนี

การทดลองที่ 2 นำผลเข้าทดสอบในลูกสุกร

เมื่อทราบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ได้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อ อี.โคไล ที่ได้ผลดีที่สุด นำพืชดังกล่าวทำการอบแห้งและป่นเป็นผงเพื่อผสมอาหารทดสอบการควบคุมโรคอุจจาระร่วงใน

Ubon Rajathanee university

การเตรียมลูกสุกรทดลอง

ฉีดฮอร์โมน Prostaglandin $F_{2\alpha}$ บริเวณอวัยวะเพศภายนอก (Vulva) แก่แม่สุกรที่อุ้มท้อง 112-113 วัน ในช่วงเช้า แม่สุกรจะคลอดลูกในวันถัดมา เลี้ยงลูกสุกรโดยไม่ทำการย้ายฝาก ทำการฆ่าเชื้อด้วยยาฆ่าเชื้อในกลุ่มของฟีนอล และป้องกันการติดเชื้อเพื่อไม่ให้ลูกสุกรอุจจาระร่วงก่อนการทดลอง และหย่านมลูกสุกรเมื่อมีอายุได้ 21 วัน ทำการคัดลูกสุกรเพศเมียที่ขนาดใกล้เคียงกัน มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีอาการอุจจาระร่วง จำนวน 5 ตัว จากแม่สุกรที่มีสุขภาพดีแต่ละตัว จำนวน 4 แม่ ชั่งน้ำหนักลูกสุกรหย่านม และจัดลูกสุกรจากแต่ละแม่เข้ากลุ่มการทดลอง 5 กลุ่มโดยการสุ่ม จัดให้ลูกสุกรอยู่ในคอกที่มีสภาพแวดล้อมเดียวกันคอกละ 1 ตัว ทั้งหมด 20 ตัวโดยการสุ่ม ยกเว้นลูกสุกรในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ที่ไม่ให้เชื้อ อี.โคไล จะมีคอกอยู่ติดกัน และไม่ติดกับกลุ่มอื่น เพื่อป้องกันการติดเชื้อจากลูกสุกรกลุ่มอื่นที่ได้รับเชื้อ อี.โคไล

การเตรียมสมุนไพร

นำสมุนไพรที่ให้ผลยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ได้ดีที่สุดในห้องทดลองมา 1 ชนิดซึ่งจากการทดสอบส่วนสกัดหยาบที่มีผลต่อเชื้อ อี.โคไล พบว่าส่วนสกัดจากใบพลูให้ผลดีในการยับยั้งเชื้อในหลอดทดลองได้ดีที่สุด จึงเลือกพลูเพื่อเป็นพืชสมุนไพรในการทดสอบการยับยั้งเชื้อในลูกสุกร พลูที่ใช้เป็นพลูพันธุ์เหลืองที่มีปลูกทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จิราพร, 2532) โดยการนำใบพลูมาอบแห้งที่อุณหภูมิเดียวกับตอนสกัดสาร ทำการป่นใบพลูให้เป็นผง ก่อนทำการผสมในอาหารลูกสุกรอนุบาลโดยเครื่องผสมอาหารขนาดเล็กก่อนการทดลอง

วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลองเป็น 5 กลุ่มทดลอง คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88 และให้อาหารที่ไม่ได้ผสมพลูป่น

กลุ่มที่ 2 ลูกสุกรได้รับเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88 ความเข้มข้น 30×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร จำนวน 40 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านม โดยการกรอกปาก ลูกสุกรได้รับอาหารที่ผสมพลูป่น ในอัตราส่วน พลูป่นต่ออาหาร เป็น 1 ต่อ 400 สามสัปดาห์แรกภายหลังหย่านม

กลุ่มที่ 3 ลูกสุกรได้รับเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88 ความเข้มข้น 30×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร จำนวน 40 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านม โดยการกรอกปาก ลูกสุกรได้รับอาหารที่ผสมพลูป่น ในอัตราส่วน พลูป่นต่ออาหาร เป็น 1 ต่อ 800 สามสัปดาห์แรกภายหลังหย่านม

กลุ่มที่ 4 ลูกสุกรได้รับเชื้อ อี.โคไล ซีโรไทป์ K88 ความเข้มข้น 30×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร จำนวน 40 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านม โดยการกรอกปาก ลูกสุกรได้รับอาหารที่ผสมพลูป่น ในอัตราส่วน พลูป่นต่ออาหาร เป็น 1 ต่อ 1200 สามสัปดาห์แรกภายหลังหย่านมลูกสุกร

กลุ่มที่5 ลูกสุกรได้รับเชื้อเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2-4 แต่ได้รับอาหารที่ไม่ได้ผสมพลูป่นเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1

การจัดการทั่วไป

-ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 7.00 น และ 16.30 น.

-ลูกสุกรที่ได้รับอาหารผสมพลูป่นเมื่อครบ 3 สัปดาห์จะเปลี่ยนเป็นอาหารสูตรปกติเหมือนกับอาหารในกลุ่มที่ 1 และ 5

-ทำวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกร โรคพิษสุนัขบ้าเทียม และโรคปากและเท้าเปื่อย เมื่อลูกสุกรอายุ 5 , 6 และ 7 สัปดาห์ตามลำดับ

ติดตามประเมินผล

- ทำการชั่งน้ำหนักลูกสุกรทุกสัปดาห์
- บันทึกอาหารที่กินได้ต่อวัน
- บันทึกระดับอาการอุจจาระร่วง ทำความสะอาด และกลับด้านแผ่นกระดานรองนอนตอนเย็นทุกวัน โดยให้ระดับคะแนนดังนี้

คะแนน 0 หมายถึง ไม่มีอาการอุจจาระร่วง

คะแนน 1 หมายถึง อุจจาระเหลว สุขภาพอื่นๆ ปกติ

คะแนน 2 หมายถึง อุจจาระเป็นน้ำ ชุบเล็กน้อย

คะแนน 3 หมายถึง อุจจาระเป็นน้ำ ชุบปานกลาง

คะแนน 4 หมายถึง อุจจาระเป็นน้ำ อุจจาระบ่อย ชุบมาก เดินโซเซ

- ตรวจความเป็นกรด-ด่าง ของอุจจาระจากลูกสุกรที่อุจจาระร่วง โดย pH paper
-ลูกสุกรที่ตาย ทำการชั่งน้ำหนัก ชันสูตรซาก

ระยะเวลาทำการทดลองในลูกสุกร 4 สัปดาห์

ระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองที่คณะเภสัชศาสตร์ และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี ระหว่างเดือน มกราคม ถึง ตุลาคม พ.ศ. 2543

ผลการทดลอง

1. การเตรียมส่วนสกัดหยาบจากสมุนไพร

1.1 การเตรียมพืชสมุนไพร

น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของพืชสมุนไพรที่ทำการศึกษาทั้ง 20 ชนิด แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของพืชสมุนไพร 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	อัตราส่วน (สด/แห้ง)
1	หูปลาช่อน *Emillia sonchifolia* Linn. DC	ใบ ลำต้น	6,150	1,730	3.6:1
2	หญ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* (Linn.) Less.	ใบ ลำต้น	1,250	450	2.8:1
3	ขมิ้นชัน *Curcuma longa* Linn.	เหง้า	1,500	980	1.5:1
4	โคไม่รู้ล้ม *Elephantopus scaber* Linn.	ใบ	900	200	4.5:1
5	หญ้าพันงูขาว *Achyranthes aspera* Linn.	ใบ ลำต้น	4,500	2,010	2.2:1
6	ผักกะสัง *Peperomia pellucida* (Linn.) Kunth.	ใบ ลำต้น	2,150	510	4.2:1
7	พลับพลึงดอกขาว *Crinum asiaticum* Linn.	ใบ	5,300	1,510	3.5:1
8	ฟ้าทะลายโจร Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees	ใบ ลำต้น	1,200	600	2:1
9	โทงเทง *Physalis minima* Linn.	ใบ ลำต้น	7,500	1,500	5:1
10	ฝรั่ง *Psidium guajava* Linn.	ใบ	1,200	500	2.4:1

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งของพืชสมุนไพร 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อสมุนไพร	ส่วนที่ใช้	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	อัตราส่วน (สด/แห้ง)
11	ดาวเรือง *Tagetes erecta* Linn.	ดอก	2,500	1,840	1.4:1
12	พลู *Piper betle* Linn.	ใบ	10,000	1,600	6.3:1
13	สาบเสือ *Eupatorium odoratum* Linn.	ใบ	4,000	1,010	3.9:1
14	หญ้าแห้วหมู *Cyperus rotundus* Linn.	ทั้งต้น	4,000	985	4.1:1
15	ลูกใต้ใบ *Phyllanthus niruri* Thw.	ใบ ลำต้น	3,000	890	3.4:1
16	บานไม่รู้โรยดอกขาว *Gomphrena globosa* Linn.	ดอก ลำต้น	300	105	2.8:1
17	จำปี *Michelia alba* DC.	ใบ	3,000	620	4.8:1
18	น้ำนมราชสีห์ *Euphorbia hirta* Linn.	ใบ ลำต้น	4,300	750	5.7:1
19	คว่ำตายหงายเป็น *Kalanchoe pinnata* (LamK.) Pers.	ใบ	4,000	470	8.5:1
20	ผักเป็ด *Alternanthera triandra* Lamk.	ใบ ลำต้น	1,400	320	4.3:1

Ubon Rajathanee university

1.2. การสกัดพืชสมุนไพร

น้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล และส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล และส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร

ลำดับ	ชื่อสมุนไพร	น้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล (กรัม)	น้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากน้ำ (กรัม)
1	หูปลาช่อน *Emillia sonchifolia* (Linn.) DC	14.38	8.65
2	หญ้าดอกขาว *Vernonia cinerea* (Linn.) Less.	26.17	9.72
3	ขมิ้นชัน *Curcuma longa* Linn.	35.55	10.29
4	ไต่ไม่รู้ล้ม *Elephantopus scaber* Linn.	15.78	6.85
5	หญ้าพันงูขาว *Achyranthes aspera* Linn.	25.20	7.32
6	ผักกะสัง *Peperomia pellucida* (Linn.) Kunth.	22.84	5.46
7	พลับพลึงดอกขาว *Crinum asiaticum* Linn.	12.93	5.15
8	ฟ้าทะลายโจร Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees	31.11	9.49
9	โทงเทง *Physalis minima* Linn.	17.58	4.74
10	ฝรั่ง *Psidium guajava* Linn.	25.30	13.21
11	ดาวเรือง *Tagetes erecta* Linn.	16.41	3.07
12	พลู *Piper betle* Linn.	37.13	15.87

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล และส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อสมุนไพร	น้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากเอธานอล (กรัม)	น้ำหนักส่วนสกัดหยาบจากน้ำ (กรัม)
13	สาปเสือ *Eupatorium odoratum* Linn.	20.58	11.02
14	หญ้าแห้วหมู *Cyperus rotundus* Linn.	22.57	6.43
15	ลูกใต้ใบ *Phyllanthus niruri* Thw.	18.22	7.45
16	บานไม่รู้โรยดอกขาว *Gomphrena globosa* Linn.	16.63	8.64
17	จำปี *Michelia alba* DC.	19.98	11.05
18	น้ำนมราชสีห์ *Euphorbia hirta* Linn.	34.93	10.04
19	คว่ำตายหงายเป็น *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers.	23.56	9.00
20	ผักเป็ด *Alternanthera triandra* Lanmk.	31.09	6.30

2. **การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย อี.โคไล ของส่วนสกัดหยาบจากสมุนไพร โดยวิธี Disc diffusion**

2.1 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตราฐาน

จากตารางที่ 3 พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากน้ำของสมุนไพรทั้ง 20 ชนิดที่นำมาศึกษา ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล *E.coli* DMST 2797, 4121, 4212, 4554, 4741, 4744 และ DMST 4818 ในขณะที่มีเพียงส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลเท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (ตารางที่ 4) โดย

1. ส่วนสกัดจากฝรั่ง ที่ความเข้มข้น 10,000 µg/disc แสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *E.coli* DMST 4554 และ 4818 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส เท่ากับ 7.90 และ 7.80 มม. ตามลำดับ
2. ส่วนสกัดจากใบพลู ที่ความเข้มข้น 10,000 µg/disc แสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานที่นำมาทดสอบทั้ง 7 สายพันธุ์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส เท่ากับ 20.20, 22.30, 20.30, 17.20, 17.20, 18.60 และ 20.30 มม. และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* DMST 4121 ได้ดีที่สุด
3. ส่วนสกัดจากลูกได้ใบ ที่ความเข้มข้นเดียวกันแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *E.coli* DMST 4121 และ 4744 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส เท่ากับ 8.20 และ 8.90 มม. ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร 20 ชนิด

สมุนไพร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (มม.)						
	DMST 2797	DMST 4121	DMST 4212	DMST 4554	DMST 4741	DMST 4744	DMST 4818
1. หูปลาช่อน	0	0	0	0	0	0	0
2. หญ้าดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
3. ขมิ้นชัน	0	0	0	0	0	0	0
4. โด่ไม่รู้ล้ม	0	0	0	0	0	0	0
5. หญ้าพันงูขาว	0	0	0	0	0	0	0
6. ผักกะสัง	0	0	0	0	0	0	0
7. พลับพลึงดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
8. ฟ้าทะลายโจร	0	0	0	0	0	0	0
9. โทงเทง	0	0	0	0	0	0	0
10. ฝรั่ง	0	0	0	0	0	0	0
11. ดาวเรือง	0	0	0	0	0	0	0
12. พลู	0	0	0	0	0	0	0
13. สาปเสือ	0	0	0	0	0	0	0
14. หญ้าแห้วหมู	0	0	0	0	0	0	0

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากน้ำของพืชสมุนไพร 20 ชนิด (ต่อ)

สมุนไพร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (มม.)						
	DMST 2797	DMST 4121	DMST 4212	DMST 4554	DMST 4741	DMST 4744	DMST 4818
15. ลูกใต้ใบ	0	0	0	0	0	0	0
16. บานไม่รู้โรยดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
17. จำปี	0	0	0	0	0	0	0
18. น้ำนมราชสีห์	0	0	0	0	0	0	0
19. คว่ำตายหงายเป็น	0	0	0	0	0	0	0
20. ผักเป็ด	0	0	0	0	0	0	0
น้ำ	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicin	16.80	19.50	25.40	22.40	15.10	17.70	24.80

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลของพืชสมุนไพร 20 ชนิด

สมุนไพร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (มม.)						
	DMST 2797	DMST 4121	DMST 4212	DMST 4554	DMST 4741	DMST 4744	DMST 4818
1. หูปลาช่อน	0	0	0	0	0	0	0
2. หญ้าดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
3. ขมิ้นชัน	0	0	0	0	0	0	0
4. โด่ไม่รู้ล้ม	0	0	0	0	0	0	0
5. หญ้าพันงูขาว	0	0	0	0	0	0	0
6. ผักกะสัง	0	0	0	0	0	0	0
7. พลับพลึงดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
8. ฟ้าทะลายโจร	0	0	0	0	0	0	0
9. โทงเทง	0	0	0	0	0	0	0
10. ฝรั่ง	0	0	0	7.90	0	0	7.80
11. ดาวเรือง	0	0	0	6.10	0	0	6.30
12. พลู	20.20	22.30	20.30	17.20	17.20	18.60	20.30

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐานของส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลของพืชสมุนไพร 20 ชนิด (ต่อ)

สมุนไพร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (มม.)						
	DMST 2797	DMST 4121	DMST 4212	DMST 4554	DMST 4741	DMST 4744	DMST 4818
13. สาปเสือ	0	0	0	0	0	0	6.20
14. หญ้าแห้วหมู	0	0	0	0	0	0	0
15. ลูกใต้ใบ	0	8.20	6.000	0	0	8.90	0
16. บานไม่รู้โรยดอกขาว	0	0	0	0	0	0	0
17. จำปี	0	0	0	0	0	0	0
18. น้ำนมราชสีห์	0	0	0	0	0	0	0
19. ดาวตายหงายเป็น	0	0	0	0	0	0	0
20. ผักเป็ด	0	0	0	0	0	0	0
น้ำ	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicin	16.80	19.50	25.40	22.40	15.10	17.70	24.80

2.2 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง

จากผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อ อี.โคไล มาตรฐาน ทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า ส่วนสกัดพลูด้วย 50% ethanol แสดงฤทธิ์ด้านเชื้อได้ดีที่สุด จึงนำมาทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง 9 ตัว พบว่า ส่วนสกัดพลูที่ความเข้มข้น 10,000 µg/disc สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ตารางที่ 5) โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส 16.20 – 27.80 มม.

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง ของส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอลของพลู

สุกรตัวที่	สายพันธุ์	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส	
		ส่วนสกัดพลู (10,000 µg/disc)	Gentamicin (10 µg/disc)
1	-	21.00	22.20
2	K88	21.30	22.30
3	-	23.40	22.40

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง ของส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอลของพลู (ต่อ)

สุกรตัวที่	สายพันธุ์	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส	
		ส่วนสกัดพลู (10,000 µg/disc)	Gentamicin (10 µg/disc)
4	-	16.20	22.50
5	K88	22.70	22.40
6	-	21.50	21.40
7	K88	27.80	24.40
8	K88	21.90	10.40
9	K88	21.00	21.40

2.3 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

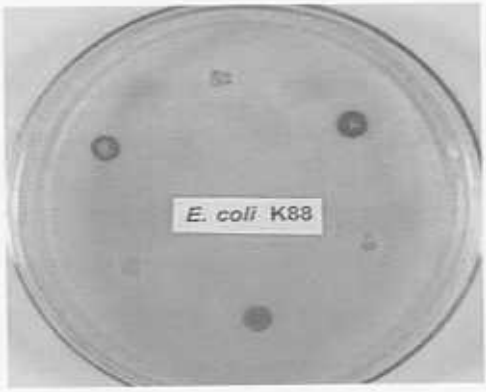
ค่า MIC ของส่วนสกัดหยาบ 50 % ethanol จากพลู ต่อเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง 4 ตัว อยู่ในช่วง 1.5625 – 3.125 mg/ml ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดหยาบจาก 50% เอธานอลของพลู ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล ที่แยกได้จากสุกรที่มีอาการท้องร่วง

สุกรตัวที่	สายพันธุ์	MIC (mg/ml)
1	-	3.125
2	K88	1.5625
3	-	3.125
4	-	3.125

2.4 ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำ และ 50% ethanol ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ อี.โคไล ที่นำมาทดสอบ

2.5 เชื้อที่นำมาทดสอบแสดงความไวต่อยาปฏิชีวนะ คือ gentamicin



รูปที่ 3 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ อี.โคไล สายพันธุ์มาตราฐาน และเชื้อที่แยกได้จากสุกรที่อาการอุจจาระร่วง

Ubon Rajathanee university

การทดลองที่ 2. ระยะนำผลเข้าทดสอบในลูกสุกร

จากผลการทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ อี.โคไล พบว่าส่วนสกัดจากใบพลูมีผลในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจึงนำพลูอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-55 °C ป่นเป็นผงขนาดเดียวกับที่ใช้สกัดสารเพื่อทำการผสมอาหารให้ลูกสุกรทดสอบตามแผนการทดลอง

1. การศึกษาระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วง

จากการศึกษาระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงในช่วง 4 สัปดาห์ของการทดลองพบว่าช่วงที่มีระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงสูง และพบการตายของลูกสุกร พบในช่วงสัปดาห์ที่ 2 , 3 และ 4 (ตารางที่ 7) สุกรทุกตัวมีอาการอุจจาระร่วงอย่างมาก ตาจมลึก ร่างกายเกิดภาวะ dehydration จากการชันสูตรซากพบลำไส้เล็กเกิดการอักเสบชนิด diffuse catarrhal enteritis ลำไส้เล็กขยายใหญ่ภายในมีน้ำสีเหลืองอ่อนและแก๊ซ อวัยวะส่วนอื่นๆ ปกติ ไม่พบอาการอาเจียน อาการทางระบบประสาท และ haemorrhage ตามอวัยวะต่างๆ (รูปที่ 4)

จากการศึกษา และเก็บข้อมูลแบบ Repeated measurements in CRD โดยให้ค่าคะแนนเป็น 0-4 เก็บข้อมูลในสุกรแต่ละตัวทุกวันนาน 20 วัน (ตารางที่ 8) เมื่อทดสอบโดยวิธี Kruskal-Wallis test ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละวัน(วันที่ 7-20) ภายหลังการให้เชื้อ อี.โคไล ($p>.05$)

ตารางที่ 7 แสดงระยะเวลา และสาเหตุการตายของลูกสุกรแต่ละกลุ่มทดลอง

กลุ่มทดลอง	จำนวนที่ตาย	จำนวนวันที่ทดลอง	ผลการชันสูตรซาก
1	1	17	อุจจาระร่วง
2	1	25	อุจจาระร่วง
3	1	16	อุจจาระร่วงรุนแรง
4	1	12	อุจจาระร่วงรุนแรง
5	1	11	อุจจาระร่วงรุนแรง

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 8 ค่าคะแนนอาการอุจจาระร่วงกระจายตามวันที่ และสุกรในแต่ละกลุ่มทดลอง

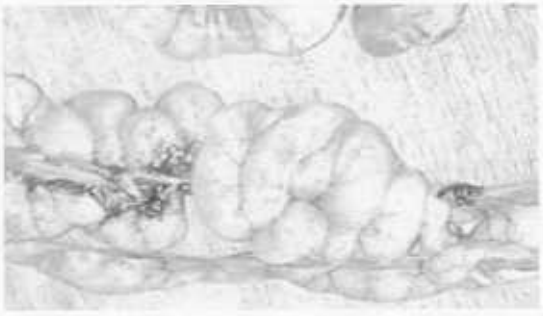
กลุ่มทดลอง	ลำดับสุกร/วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	2	3	3	4	0	1 ตาย	-	-	-	
	4	0	0	0	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	3	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	0	3	4	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	4	4
3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	3	0	1	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	4	4 ตาย	-	-	-	-	
	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	0	0	3	0	0	3	3
4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3 ตาย	-	-	-	-	-	-	-	-	
	4	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	2	2	3	0	3	3	0	1	3	4
5	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	1	1	3	2	1	0	3	3
	4	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3 ตาย	-	-	-	-	-	-	-		-	-

A

B

C

D



E

รูปที่ 4 : A. สุกรปกติ B. สุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงเป็นน้ำ ซูบปานกลาง (ค่าคะแนน=3) C. สุกรอุจจาระร่วงรุนแรง มีภาวะ dehydration มาก (ค่าคะแนน=4) D. สุกรอุจจาระร่วง ตาจมลึก มีภาวะ dehydration รุนแรง ตาย E. ลำไส้เล็กมีภาวะ hyperaemia และการอักเสบ

2.การศึกษาความเป็นกรด-ด่างของอุจจาระของสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วง

จากการศึกษาพบว่าเมื่ออาการอุจจาระร่วงมีความรุนแรงมากขึ้นค่า pH จะสูงขึ้นด้วยเมื่อพิจารณาข้อมูลตามระดับความรุนแรงที่เปลี่ยนแปลงไปในสุกรแต่ละตัวโดยไม่เก็บข้อมูลซ้ำในระดับความรุนแรงเดิมในสุกรตัวเดียวกันแต่เก็บข้อมูลเมื่อระดับความรุนแรงเปลี่ยนแปลงไปดังตารางที่ 9 และวิเคราะห์ข้อมูลหาความสัมพันธ์แบบ Spearman Rank Correlation Coefficient พบว่า pH ของอุจจาระของลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (r_s=.699, $p<.05$, n=38)

ตารางที่ 9 แสดงค่า pH ของอุจจาระลูกสุกรกระจายตามระดับความรุนแรงของระดับอาการอุจจาระร่วง

ค่า pH ของอุจจาระ	ระดับความรุนแรงอาการอุจจาระร่วง		
	1-2	3-4	รวม
	n (%)	n (%)	n (%)
7	16 (66.7)	2 (14.3)	18 (47.4)
8-9	8 (33.3)	12 (85.7)	20 (52.6)
รวม	24 (63.2)	14 (36.8)	38 (100)

n: จำนวนตัวอย่างอุจจาระ

3. การศึกษาการเจริญเติบโต (Daily live weight gain)

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตต่อวันโดยออกแบบการทดลองเป็น Repeated measurements in CRD (ตารางที่ 10) ทำการเก็บข้อมูล และสรุปอัตราการเจริญเติบโตต่อวันทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อวิเคราะห์หาค่า correlation ของ error จากการวัดซ้ำในแต่ละสัปดาห์โดยวิธี Mauchly และ Orthogonal transformation พบว่าในการวัดซ้ำแต่ละครั้งข้อมูลที่ได้ไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) และเมื่อทดสอบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Repeated measures analysis of variance พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$)

ตารางที่ 10 แสดงค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัม) ของสุกรแต่ละตัวในแต่ละการทดลองแยกตามสัปดาห์ที่ 1-4

กลุ่มทดลอง	ลำดับสุกร	สัปดาห์ 1	2	3	4
1	1	142.9	328.6	242.9	500
	2	28.6	200	314.3	300
	3	28 6	-114.3	ตาย	-
	4	-129	-100	157.1	214.3
2	1	14.3	257.1	314.3	471.4
	2	42.9	257.1	71.4	228.6
	3	-14.3	-157.1	-142.9	ตาย
	4	71.4	71.4	-85.7	-100
3	1	57.1	0	300	471.4
	2	0	157.1	242.9	285.7
	3	57.1	-142.9	ตาย	-
	4	85.7	-100	-28.6	242.9
4	1	57.1	442.9	400	557.1
	2	42.9	214.3	371.4	428.6
	3	14.3	ตาย	-	-
	4	14.3	-71.4	-57.1	100
5	1	171.4	285.7	400	685.7
	2	0	185.7	257.1	371.4
	3	114.3	-171.4	-85.7	514.3
	4	57.1	ตาย	-	-

4. ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed conversion rate)

จากการศึกษาประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) โดยออกแบบการทดลองเป็น Repeated measurements in CRD ทำการเก็บข้อมูล และหาค่า FCR แต่ละสัปดาห์พบว่าข้อมูลที่ได้มีค่าติดลบ. เป็นศูนย์ และหาค่าไม่ได้จำนวนมากเนื่องจากเป็นการทดลองโดยการให้เชื้อแบคทีเรียเพื่อทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงทำให้สุกรไม่ค่อยกินอาหาร และน้ำหนักลด ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลได้

Ubon Rajathanee university

5. อัตราการกินได้ (Feed intake)

จากการศึกษาค่าเฉลี่ยปริมาณการกินอาหารในช่วง 3 สัปดาห์แรก ซึ่งเป็นช่วงที่กลุ่มทดลองที่ 2, 3 และ 4 ให้อาหารผสมพลูปนพบว่ามีค่า 5648±3127, 4630±2155, 4693±906, 6763±4060 และ 6436±3703 ตามลำดับกลุ่มทดลอง1-5 การให้พลูปนผสมอาหารในอัตราส่วนพลูปนต่ออาหารเท่ากับ 1:400 (กลุ่มทดลองที่ 2) และ 1:800 (กลุ่มทดลองที่ 3) มีผลให้ปริมาณการกินอาหารลดลงกว่ากลุ่มที่ 4 ซึ่งใส่พลูปนอัตราส่วน 1:1200 และกลุ่มที่ 1 และ 5 ซึ่งไม่ได้ใส่พลูปนในอาหาร แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) ของปริมาณการกินอาหารของแต่ละกลุ่มทดลอง

เมื่อศึกษาการกินอาหารในแต่ละสัปดาห์ของสุกรแต่ละตัวโดยออกแบบการทดลองเป็น Repeated measurements in CRD (ตารางที่ 11) ทำการเก็บข้อมูล และสรุปการกินอาหารในแต่ละสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อวิเคราะห์หาค่า correlation ของ error จากการวัดซ้ำในแต่ละสัปดาห์โดยวิธี Mauchly และ Orthogonal transformation พบว่าในการวัดซ้ำแต่ละครั้งข้อมูลที่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) เมื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มทดลองกับเวลาในการเก็บข้อมูลแต่ละสัปดาห์ด้วยวิธี multivariate analysis of variance พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) และเมื่อทดสอบความแตกต่างของการกินอาหารระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Repeated measures analysis of variance พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$)

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณอาหาร (กรัม) ที่สุกรกินแต่ละสัปดาห์ต่อตัว

กลุ่มทดลอง	ลำดับสุกร	สัปดาห์ 1	2	3	4
1	1	1270	3190	4000	6250
	2	685	2200	3320	3950
	3	870	1030	ตาย	-
	4	1120	10	1150	2310
2	1	690	2540	3660	5520
	2	930	2520	2120	3410
	3	920	920	0	ตาย
	4	1110	2410	700	1380
3	1	890	2120	2560	5250
	2	460	1580	2710	3710
	3	910	840	ตาย	-
	4	1390	1700	670	2100

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณอาหาร (กรัม) ที่สุกรกินแต่ละสัปดาห์ต่อตัว (ต่อ)

กลุ่มทดลอง	ลำดับสุกร	สัปดาห์ 1	2	3	4
4	1	1140	4190	5010	6540
	2	810	2890	3900	5000
	3	630	ตาย	-	-
	4	850	560	940	1170
5	1	1405	3460	5470	8130
	2	700	2090	3220	4810
	3	1235	1070	660	3460
	4	1315	ตาย	-	-

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดหยาบของพลูด้วย 50 เปอร์เซ็นต์เอธานอลให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Enteropathogenic E.coli* ทั้งชนิดมาตรฐาน และที่ได้จากลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วง รวมทั้งซีโรไทป์ K88 ได้ดีเท่ากับ gentamicin ในระดับความเข้มข้น 10,000 µg/disc สอดคล้องกับรายงานของ พรสวรรค์ และคณะ (อ้างถึงโดย ลัดดาวัลย์ และคณะ, 2533) ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบพลูด้วย ethanol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐาน ส่วนรายงานการศึกษาของ พิมลวรรณ และคณะ (อ้างถึงโดย พิณทิพย์ และวาริพินทุ, 2536) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหย, สารสกัดด้วย petroleum ether และสารสกัดด้วย ether ต่างก็มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล แต่สารสกัดด้วย ethanol และน้ำมีฤทธิ์อ่อน และรายงานของจิราพร (2532) รายงานถึงส่วนน้ำมันพลูในอัตราส่วน 1:2,000 สามารถยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ได้

เมื่อนำพลูป่นอบแห้งผสมอาหารเข้าทดสอบในลูกสุกรหลังหย่านมพบว่าระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วง อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ปริมาณการกินอาหารต่อสัปดาห์ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) การที่พลูป่นผสมอาหารไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วงจากการให้เชื้อลูกสุกรนั้นอาจเกิดจาก 3 กรณี คือ การให้เชื้อจำนวน 30×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร จำนวน 40 มิลลิลิตรในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านมโดยการกรอกให้กินนั้นอาจเป็นจำนวนที่มากเกินไปโดยทันทีทำให้สุกรมีอาการอุจจาระร่วงอย่างมากในทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งโดยความเป็นจริงแล้วลูกสุกรหลังหย่านมจะค่อยๆ รับเชื้อทีละน้อยจากสิ่งแวดล้อมภายหลังการหย่านม ในกรณีที่สองในพลูมีสารต่างๆ มากมายเช่น

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณอาหาร (กรัม) ที่สุกรกินแต่ละสัปดาห์ต่อตัว (ต่อ)

กลุ่มทดลอง	ลำดับสุกร	สัปดาห์ 1	2	3	4
4	1	1140	4190	5010	6540
	2	810	2890	3900	5000
	3	630	ตาย	-	-
	4	850	560	940	1170
5	1	1405	3460	5470	8130
	2	700	2090	3220	4810
	3	1235	1070	660	3460
	4	1315	ตาย	-	-

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดหยาบของพลูด้วย 50 เปอร์เซ็นต์เอธานอลให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Enteropathogenic E.coli* ทั้งชนิดมาตรฐาน และที่ได้จากลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วง รวมทั้งซีโรไทป์ K88 ได้ดีเท่ากับ gentamicin ในระดับความเข้มข้น 10,000 µg/disc สอดคล้องกับรายงานของ พรสวรรค์ และคณะ (อ้างถึงโดย ลัดดาวัลย์ และคณะ, 2533) ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบพลูด้วย ethanol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ อี.โคไล สายพันธุ์มาตรฐาน ส่วนรายงานการศึกษาของ พิมลวรรณ และคณะ (อ้างถึงโดย พิณทิพย์ และวาริพินทุ, 2536) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหย, สารสกัดด้วย petroleum ether และสารสกัดด้วย ether ต่างก็มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล แต่สารสกัดด้วย ethanol และน้ำมีฤทธิ์อ่อน และรายงานของจิราพร (2532) รายงานถึงส่วนน้ำมันพลูในอัตราส่วน 1:2,000 สามารถยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ได้

เมื่อนำพลูป่นอบแห้งผสมอาหารเข้าทดสอบในลูกสุกรหลังหย่านมพบว่าระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วง อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ปริมาณการกินอาหารต่อสัปดาห์ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) การที่พลูป่นผสมอาหารไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วงจากการให้เชื้อลูกสุกรนั้นอาจเกิดจาก 3 กรณี คือ การให้เชื้อจำนวน 30×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร จำนวน 40 มิลลิลิตรในวันที่ 5 และ 6 ภายหลังการหย่านมโดยการกรอกให้กินนั้นอาจเป็นจำนวนที่มากเกินไปโดยทันทีทำให้สุกรมีอาการอุจจาระร่วงอย่างมากในทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งโดยความเป็นจริงแล้วลูกสุกรหลังหย่านมจะค่อยๆ รับเชื้อทีละน้อยจากสิ่งแวดล้อมภายหลังการหย่านม ในกรณีที่สองในพลูมีสารต่างๆ มากมายเช่น

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

Charvicol, Chavibetol allypyrocatechol, methyl charvicol, eugenol, estragol, cadinene ทำให้พลูมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการฆ่าเชื้อโรค เช่น *Staphyllococcus aureus* และ β -hemolytic Streptococci group A และทำให้เกิดการชาเฉพาะที่ (อ้างถึงโดย ประนอม และคณะ, 2533) นอกจากนี้ยังอาจมีสารอื่นๆ อีกมากมายที่อาจมีฤทธิ์ขัดขวางการออกฤทธิ์ของสารแต่ละตัวได้ และกรณีสุดท้ายสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อเมื่อให้โดยการกินอาจไม่มีความทนทานต่อกรด และเอ็นไซม์ในทางเดินอาหารทำให้ผลในการยับยั้งเชื้อแตกต่างจากการทดสอบเชื้อในห้องทดลองสิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นประเด็นปัญหาที่ควรจะมีการทดสอบในภาคสนามต่อไป

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงตามระดับความรุนแรงในลูกสุกรแต่ละตัวพบว่าส่วนใหญ่มี pH อยู่ในช่วง 8-9 (52.6%) สอดคล้องกับรายงานของ Kohler (1968) ที่ได้รายงานว่าอุจจาระของลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงเนื่องจากเชื้อ อี.โคไล จะมี pH อยู่ในช่วง 8-8.5 และสอดคล้องกับรายงานของ Wilson (1981) ที่รายงานว่าอุจจาระของลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงเนื่องจากเชื้อ อี.โคไล จะมีคุณสมบัติเป็นด่าง ส่วนอุจจาระร่วงในลูกสุกรที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะมีคุณสมบัติเป็นกรด จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ของค่า pH กับระดับความรุนแรงของอาการอุจจาระร่วงพบว่าเมื่อระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า pH สูงขึ้นด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (r_s=.699, $p<.05$, n=38)

สรุป และข้อเสนอแนะ

โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาทั้งกระบวนการขั้นพื้นฐานในการหาพืชสมุนไพรที่แต่เดิมเชื่อว่ามีสรรพคุณในการรักษาอาการอุจจาระร่วงในคน ทำการสกัด ทดสอบส่วนสกัดหยาบกับเชื้อในห้องทดลองและประยุกต์ใช้โดยใช้สมุนไพรชนิดที่ให้ส่วนสกัดหยาบที่มีผลในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ในการใช้ส่วนสกัดจากใบพลูด้วย 50 เปอร์เซ็นต์เอธานอลพบว่าให้ผลในการยับยั้งเชื้อ อี.โคไล ได้ใกล้เคียงกับ gentamicin ที่ความเข้มข้น 10 μg/disc แต่ในการทดสอบในสุกรโดยผสมพลูป่นในอาหารให้สุกรกิน 3 สัปดาห์หลังหย่านมพบว่าไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ อี.โคไล ที่ใช้หนี่ยวนำให้เกิดโรคในสุกรได้ การใช้สมุนไพรแทนการนำส่วนสกัดหยาบไปทดสอบกับสุกรโดยตรงเนื่องจากจุดประสงค์ของการศึกษาต้องการให้เกิดผลในการปฏิบัติจริงที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้ เนื่องจากขบวนการสกัดด้วยเอธานอลเพื่อให้ได้ส่วนสกัดหยาบใช้ต้นทุนสูงพอสมควร การเก็บรักษาให้ยาคงคุณภาพอาจมีความยุ่งยาก ไม่สะดวกในการรักษา ตลอดจนส่วนสกัดบางชนิดโดยเฉพาะพลูมีคุณสมบัติเหนียว และเผ็ดร้อนอย่างมากไม่สามารถให้สุกรกินโดยตรงได้ซึ่งควรมีการศึกษารูปแบบการเตรียมยาในรูปผสมสื่อต่อไปหากจะมีการใช้ส่วนสกัดหยาบโดยตรง นอกจากนี้การใช้ส่วนสมุนไพรป่นในการผสมอาหารในสุกรอนุบาลเพื่อหวังผลในการรักษาควรคำนึงถึงผลต่อการกินอาหารด้วยเนื่องจากสุกรอาจไม่ชอบกลิ่น และรสทำให้การกินอาหารลดลงส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตซึ่งจะส่งผลต่อการตัดสินใจในการใช้ของเกษตรกรในที่สุด

Ubon Rajathanee university

Ubon Rajathanee university

เอกสารอ้างอิง

กิจจา อุไรรงค์. 2535. แนวทางการวินิจฉัยรักษาและควบคุมโรคสุกร. โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต, กรุงเทพฯ. 239-250 หน้า.

คัมภีร์ กอธีระกุล เทิด เทศประทีป วรา พานิชเกรียงไกร โสมทัต วงศ์สว่าง วราภรณ์ แซ่ลี้ และสมศักดิ์ ภักดีศิริภรณ์. 2530. การสำรวจพบเชื้อ อี. โคไล ซีโรไทป์ K88 จากลูกสุกรวัยดูดนม และหลังหย่านม. เวชชสารสัตวแพทย์. 17 (1) :21-27.

จิราพร ขาวสวัสดิ์. 2532 . ต้นทุน และผลตอบแทนจากการปลูกพลู. วิทยานิพนธ์ ภาควิชาบัญชี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 133 หน้า.

นฤมล ชัยมงคล, วรปี สุวัฒนวิโรจน์ และวราภรณ์ บุญมี. 2534 (2534). การศึกษาประสิทธิภาพของลิกแนนจากเปลือกต้นยางบงต่อการหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย. สัตวแพทย์สาร. 42 (4) :199-206.

นลินี อิ่มบุญตา, จันทร์จรัส เรี่ยวเดชะ, พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป และเปล่งศรี อิงคนินันท์. 2539. ประมวลงานวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตสุกรของประเทศไทย (2526-2538). เวชชสารสัตวแพทย์. 26 (4) : 297-305.

ประภาส พัชนี. 2540. การวินิจฉัยและการควบคุมป้องกันโรคท้องเสียในลูกสุกร. สัตว์เศรษฐกิจ. 325 :30-31.

ประนอม โพธิยานนท์ ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ อารีรัตน์ ลออปักษา นภดล นพคุณ สารี วิรุฬหผล ประสาน ธรรมอุปกรณ์ อิงอร มันทรานนท์ และวรรณภา มหาพสุธานนท์. 2533. รายงานการวิจัย และพัฒนาประสิทธิภาพครีมจากสารสกัดใบพลู. คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 36 หน้า.

พจนีย์ สุริยะวงศ์ สุมาลย์ สาระยา อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ พนิดา ชัยเนตร และอัมพร สุคนธมาน. 2530. ฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดสมุนไพรต่อการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินหายใจส่วนบน. วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 14 (2) :21-26.

พิณทิพย์ พงษ์เพ็ชร และวาริพินทุ. 2536. การศึกษาฤทธิ์ด้านจุลชีพของครีมพลู และเจลพลูต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรียบางชนิด. วารสารองค์การเภสัชกรรม.19 (4) :9-25.

พะยอม ตันติวัฒน์. 2524 . เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง " สมุนไพร". คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25 หน้า.

มาลินี ลิ้มโกคา. 2522. ยาที่ตกค้างและระยะเวลาที่ตกค้างอยู่ในเนื้อสัตว์ที่ใช้บริโภค. สัตวแพทย์สาร. 3 (30) : 157-168.

มาลี บรรจบ และสุธิดา ไชยราช. 2540. การศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านในจังหวัดนครราชสีมา. สถาบันวิจัยสมุนไพร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน้า 14-17.

ลัดดาวัลย์ บัญรัตนกรกิจ อิงอร มันทรานนท์ สันติ ถุงสุวรรณ สารี วิรุฬหผล อรพิน ยิ่งยง วิมลมาศ ลิปิพันธ์ ประนอม โพธิยานนท์ และวรรณภา ศิริประชัย. 2533. ฤทธิ์ของสมุนไพรพลูต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง. ไทยเภสัชสาร. 15 (4) :269-276.

Ubon Rajathanee university

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารานุกรมสมุนไพร. วังบูรพา, กรุงเทพฯ. หน้า 124-254.

สุนทรี สิงหบุตรา. 2536. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ. หน้า 78-89.

สมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์และเคมีภัณฑ์สำหรับสัตว์. 2535. Directory"92 Animal Health Product : หน้า 91-172 .

Kohler, E.M. 1968. Enterotoxic Activity of filtrated of Escherichia coli in young pigs. Am. J. Vet. Res., 29 (Dec, 1968):2263-2274.

Taylor, D.J. 1989. Pig Diseases 5 th ed. The Burling Press (Cambridge) Ltd., Foxton, Cambridge. p. 86-100.

Wilson, M.R. 1981. Enteric Colibacillosis. In:Disease of swine. 5th ed Ames, Iowa State University Press. p. 471-477.

ประวัตินักวิจัย และคณะ

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ	น.สพ. นนทกรณ์ อุรโสภณ
	Mr.Nontakorn Urasopon
คุณวุฒิ	สพ.บ.(สัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต)
ตำแหน่ง	อาจารย์ระดับ 5
สังกัด	ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประสบการณ์งานวิจัย	มีประสบการณ์วิจัยทางด้านสัตว์เศรษฐกิจ 1 ปี
สัดส่วนการทำวิจัย	ดำเนินงานวิจัย 27 %

ผู้วิจัยร่วม

ชื่อ	นางปาจารีย์ ทองงอก
	Mrs.Pajaree Tongngok
คุณวุฒิ	วท.ม.(สรีรวิทยา)
ตำแหน่ง	อาจารย์ระดับ 5
สังกัด	คณะเกสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประสบการณ์งานวิจัย	มีประสบการณ์วิจัยทางด้านเกสัชวิทยา 3 ปี
สัดส่วนการทำวิจัย	ร่วมดำเนินงานวิจัย 25 %

ชื่อ	นายวัชรพงษ์ วัฒนกูล
	Mr Watcharapong Wattanaku
คุณวุฒิ	Ph.D. (Swine Production,UK.)
ตำแหน่ง	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ระดับ 7
สังกัด	ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประสบการณ์งานวิจัย	มีประสบการณ์วิจัยทางด้านสุกร 12 ปี
สัดส่วนการทำวิจัย	ร่วมดำเนินการวิจัย 20 %

Ubon Rajathanee university

ชื่อ	นายอารี วังมณีรัตน์
	Mr.Aree Wangmaneerat
คุณวุฒิ	MS (Natural Products,USA)
ตำแหน่ง	อาจารย์ระดับ 5
สังกัด	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประสบการณ์งานวิจัย	มีประสบการณ์วิจัยทางเภสัชวิทยา 7 ปี
สัดส่วนการทำวิจัย	ร่วมดำเนินการวิจัย 20 %

ชื่อ	นายอินทร์ ศาลางาม
	Mr.Intr Salargam
คุณวุฒิ	วท.บ.(เกษตรศาสตร์)
ตำแหน่ง	นักวิชาการ ระดับ 5
สังกัด	สำนักงานไร่ฝึกทดลองและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประสบการณ์งานวิจัย	มีประสบการณ์วิจัยทางเภสัชวิทยา 4 ปี
สัดส่วนการทำวิจัย	ร่วมดำเนินการวิจัย 8 %

Ubon Rajathanee university