

## บทที่ 4

### บทวิจารณ์

จากการรวบรวมเชื้อ *Shigella* spp. ที่แยกจากอุจจาระของผู้ป่วย ที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในช่วงปี พ.ศ. 2541-2542 (ตารางที่ 3) พบว่าสายพันธุ์ที่ก่อโรคมียังมีเพียง 2 สปีชีส์ แบ่งเป็น *S. flexneri* 23 สายพันธุ์ และ *S. sonnei* 41 สายพันธุ์ (พบ *S. sonnei* มากเกือบเป็น 2 เท่าของ *S. flexneri*) โดยไม่พบ *S. dysenteriae* และ *S. boydii* ผลการศึกษาครั้งนี้ จะสอดคล้องกับการศึกษา ในอีกหลาย ๆ ประเทศ เช่น ตุรกี (Aysev and Guriz, 1998), สหรัฐอเมริกา (Replogle et al., 2000), อิสราเอล (Mate et al., 2000) แต่มีความแตกต่างจากรายงานการแยกเชื้อของผู้ป่วยโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในช่วงปี พ.ศ. 2537-2538 (อรพินท์ หลีกภัย, 2541) และจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงปี พ.ศ. 2532-2533 ที่แยกเชื้อได้ *S. flexneri* มากกว่า *S. sonnei* (Sirivichayakul and Thisyakorn, 1998)

จากการเปลี่ยนแปลงสปีชีส์ของเชื้อที่ก่อโรคเกิดขึ้นเนื่องจากระบบสุขอนามัยที่เปลี่ยนแปลงไป การติดเชื้อ *S. flexneri* เกิดเนื่องจากระบบสุขอนามัยที่ไม่ดีมักเกิดในประเทศกำลังพัฒนา การระบาดของเชื้อเกิดได้เนื่องจากการแพร่เชื้อโดยตรงจากนิ้วมือที่เปื้อนอุจจาระไปยังอาหารและน้ำดื่ม ในขณะที่ประเทศที่พัฒนาแล้ว หรือ กลุ่มที่มีอนามัยส่วนบุคคลดี *S. sonnei* จะเป็นสปีชีส์หลักที่ก่อโรค การเกิดโรคมักเกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนอยู่โดยผู้ปรุงอาหาร หรือมีแมลงวัน แมลงหวี่ เป็นต้นนำเชื้อเข้ามาปนเปื้อน (Samuel, 1991)

เนื่องจากปริมาณเชื้อเพียงเล็กน้อยก็สามารถก่อให้เกิดโรคได้ การระบาดของโรคส่วนใหญ่จะเกิดในเด็กก่อนวัยเรียน ซึ่งมีระบบการดูแลสุขอนามัยที่ไม่ดี เช่นอยู่ในสถานชุมชนที่มีการอยู่กันอย่างหนาแน่น สถานรับเลี้ยงเด็ก โรงเรียนอนุบาล ช่วงอายุของผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้นมากที่สุดจะพบอยู่ในช่วง 1-4 ปี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของผู้วิจัยท่านอื่น ๆ (Larson, 1984; Mahon and Manuselis, 1995)

ในปัจจุบันการดื้อยาต้านจุลินทรีย์ของ *Shigella* เป็นปัญหาที่สำคัญมาก ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อมีการดื้อต่อยา ampicillin และยา TMP-SMZ ซึ่งเป็นยากลุ่มแรกที่ใช้รักษาทำให้ต้องมีการพัฒนายาที่จะนำมาใช้ยู่ตลอดเวลา ในการศึกษาครั้งนี้เมื่อทดสอบความไวของยาต้านจุลินทรีย์จำนวน 5 ชนิด (ตารางที่ 5-6) จะพบว่าเชื้อเกือบทุกสายพันธุ์ จะดื้อต่อยา ampicillin และ TMP-SMZ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เคยศึกษามาก่อน (Lolekha *et al.*, 1991; Srison and Pornpatkul, 1995; Ndiokubwayo *et al.*, 1996; Maraki *et al.*, 1998)

ยาต้านจุลินทรีย์ที่ใช้รักษาโรคในปัจจุบัน ได้แก่ยา gentamicin, nalidixic acid, norfloxacin, ciprofloxacin และ ofloxacin (Cheasty *et al.*, 1998; Legros *et al.*, 1998)

เนื่องจาก *Shigella* มีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น และยาใหม่ที่ใช้รักษาก็มีราคาแพง การรักษาโรคโดยการใช้สมุนไพรก็เป็นทางเลือกทางหนึ่งที่น่าสนใจ การใช้สมุนไพรในการรักษาโรคบิดมีมานานแล้ว สมุนไพรส่วนใหญ่ยังไม่ได้มีการทดลองทางวิทยาศาสตร์ ว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Shigella* จริงหรือไม่ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้คัดเลือกสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคบิดและโรคท้องร่วง มาจำนวน 29 ชนิด ทำการสกัดโดยการหมักด้วย alcohol และต้มด้วยน้ำ พบว่าสมุนไพรบางชนิด ให้ปริมาณสารมากเมื่อสกัดด้วย alcohol (ตารางที่ 8) แต่บางชนิดให้ปริมาณสารมากเมื่อสกัดด้วยน้ำ (ตารางที่ 9) ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบของสารสำคัญที่พบในสมุนไพรชนิดนั้น ๆ นอกจากนี้วิธีการสกัดโดยการต้มยังเป็นตัวเร่งให้สารละลายออกมาเพิ่มขึ้น

เมื่อศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรในการต้านเชื้อ *Shigella* spp. โดยที่ในการทดสอบขั้นแรก จะเป็นการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อเบื้องต้นต่อเชื้อ *Shigella* spp. สายพันธุ์อ้างอิงทั้ง 4 สายพันธุ์ เพื่อจะคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ดี ไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Shigella* spp. สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วย ทั้ง 64 สายพันธุ์ ซึ่งแยกมาจากอุจจาระของป่วยที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

นำสารสกัดที่ได้ มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นต่อ *Shigella* spp. สายพันธุ์อ้างอิง โดยวิธี disc diffusion โดยมีการวางแผ่น disc 2 แบบคือแผ่นเปียก และ แผ่นแห้ง ผลการทดสอบไม่แตกต่างกันมากนัก (ตารางที่ 10-11) พบว่าแบบแผ่นเปียก สารสกัดสามารถแพร่ได้ดีกว่าจึงให้ขนาดของขอบวงใสมากกว่า แบบแผ่นแห้งเพียงเล็กน้อย

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. dysenteriae* มีสมุนไพรจำนวน 17 ชนิด ที่ให้ผลในการต้านเชื้อ โดยในจำนวนดังกล่าว เคยมีรายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. dysenteriae* มา

ก่อน 4 ชนิด คือ ฟาง สมอติงู (Avirutnant and Pongpan, 1983) หว่า และ กานพลู (Ahmad and Beg, 2000) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. flexneri* 2a มีสมุนไพรมาก่อน 9 ชนิด ที่ให้ผลในการต้านเชื้อ โดยในจำนวนดังกล่าว เคยมีรายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. flexneri* มาก่อน 4 ชนิด มีทั้งที่ให้ผลสอดคล้องและแตกต่างกับการศึกษาครั้งนี้ สมุนไพรที่ให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้มี 3 ชนิด ได้แก่ น้ำนมราชสีห์ (Tona et al., 1999), พิลังกาสา (Luanratana, 1988) และ เจตมูลเพลิงแดง (Pongpan et al., 1982) และให้ผลที่แตกต่างกับการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ พะยอม ซึ่งมีรายงานมาก่อนว่าไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ (Gritsanapan and Chulasiri, 1983) การที่ผลการทดสอบครั้งนี้ให้ผลตรงกันข้ามกับรายงานที่มีมาก่อน น่าจะมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น วิธีการสกัดสารที่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของสารสกัด แหล่งของสมุนไพรรวมถึง ความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ซึ่งในการเก็บพืชแต่ละครั้ง เมื่อนำมาสกัด กลุ่มสารสำคัญที่แยกได้ในแต่ละครั้งจะไม่เท่ากัน (Nimiri et al., 1999; Lin et al., 1999)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นมีสมุนไพรมาก่อน 12 ชนิด ที่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อที่นำมาทดสอบทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อมีปริมาณน้อย หรือ สมุนไพรเหล่านั้นไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นและผลการหาค่า MIC ต่อ *Shigella* spp. สายพันธุ์อ้างอิงที่แสดงใน ตารางที่ 12-13 จะเห็นว่า *S. dysenteriae* มีความไวต่อสารสกัดหยาบมากที่สุด รองลงมาคือ *S. flexneri* 2a ต่อดูดสารสกัดหยาบมากที่สุดคือ *S. sonnei*

เมื่อพิจารณาผลการหาค่า MIC ของสารสกัดสมุนไพรมต่อ *Shigella* spp. สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วย (ตารางที่ 14) จะพบว่า *Shigella* spp. ทั้ง 2 สปีชีส์ ที่แยกจากผู้ป่วย ซึ่งเกือบทั้งหมดจะดื้อต่อยา ampicillin และ TMP-SMZ จะมีความไวต่อพืชสมุนไพรร่วมกับ สายพันธุ์ซึ่งไวต่อยาทั้ง 2 ชนิดนี้ แสดงให้เห็นว่า การดื้อยาด้านจุลินทรีย์ ไม่มีผลรบกวน หรือเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยของ Ahmad and Beg (2000)

เมื่อพิจารณาค่า MIC ของสารสกัดสมุนไพรมแต่ละชนิดต่อ *S. flexneri* ทั้ง 23 สายพันธุ์ ซึ่งมี serotype ต่างกัน และแยกเชื้อมาจากผู้ป่วยที่อายุต่างกัน (ตารางที่ 3) พบว่าจะมีค่าเท่ากันหรือ ต่างกันเพียง 1-2 dilution (ตารางที่ 14) ค่า MIC ของสารสกัดสมุนไพรมแต่ละชนิดต่อ *S. sonnei* ทั้ง 41 สายพันธุ์ซึ่งแยกมาจากผู้ป่วยซึ่งมีอายุต่างกัันก็ให้ผลการทดสอบเป็นไปใน

ทำนองเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถใช้ได้กับเชื้อที่มี serotype ต่างกัน หรือเชื้อที่ได้จากผู้ป่วยที่อยู่ในวัยต่างกันได้ผล

เมื่อพิจารณาค่า MIC ของสารสกัดสมุนไพร (ตารางที่ 14) ต่อ *Shigella* spp. สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วย พบว่าสารสกัดสมุนไพรทุกชนิด จะให้ค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. flexneri* ต่ำกว่า เชื้อ *S. sonnei*

เมื่อศึกษาถึงกลุ่มสารสำคัญที่พบในพืชแต่ละชนิดจะพบว่า

ผลสมอติง มีสารกลุ่ม tannins เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ (Burapadaja and Bunchoo, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่า พืชในสปีชีส์อื่น เช่น ผลสมอไทย ผลสมอพิฆาก จะมีสารกลุ่ม phenols, tannins และ saponins ซึ่งสามารถยับยั้ง *S. dysenteriae* ได้ (Ahmad and Beg, 2000)

ลูกใต้ใบ มีสารกลุ่ม alkaloids และ tannins เป็นองค์ประกอบหลัก (Foo, 1993; Houghton *et al.*, 1996)

ใบหว่า มีสารกลุ่ม phenols, tannins และ saponins เป็นองค์ประกอบหลัก (Ahmad and Beg, 2000)

ดอกกานพลู มีสารกลุ่ม flavonoids, phenols, tannins และ saponins เป็นองค์ประกอบหลัก (Ahmad and Beg, 2000)

ต้นน้ำนมราชสีห์ มีสารกลุ่ม flavonoids, tannins และ saponins เป็นองค์ประกอบหลัก (Tona *et al.*, 1998) สามารถต้านเชื้อ *Entamoeba histolytica* ซึ่งทำให้เกิดโรคบิดมีตัว

ใบคำแสด มีสารกลุ่ม flavonoids เป็นองค์ประกอบหลัก (Terashima *et al.*, 1991)

ฝาง มีสารกลุ่ม flavonoids, sterols, triterpenes, phenols และ tannins เป็นองค์ประกอบ (Steinmetz, 1960; Namikoshi *et al.*, 1987a; Namikoshi *et al.*, 1987b; Yadava and Nigam, 1987; Oh *et al.*, 1998 )

จะเห็นได้ว่าสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในพืชสมุนไพรดังกล่าว คือสารกลุ่ม tannins ซึ่งสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Nimiri *et al.*, 1999; Djipa *et al.*, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Otshudi *et al* (2000) ที่กล่าวว่า พืชที่มี tannins มักจะใช้ในการรักษาโรคท้องร่วง และบิด ได้ผล

เมื่อศึกษาถึงคุณสมบัติของ tannins จะพบว่า tannins สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ดี จึงสามารถตกตะกอนโปรตีนของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังมีผลต่อเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย โดยยับยั้งขบวนการเกิด Oxidative phosphorylation (Scalbert, 1991)

แต่ในการศึกษาครั้งนี้จะพบว่าสมุนไพรมหาส่วนใหญ่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. sonnei* ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะต้องใช้ความเข้มข้นสูงกว่า 4.0 mg/ml หรือสารกลุ่ม tannins ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่า มีจุลินทรีย์หลายกลุ่มทั้งแบคทีเรีย รา และ ยีสต์ สามารถป้องกันอันตรายจากสารกลุ่ม tannins ได้ในหลาย ๆ วิธี (Scalbert, 1991) เช่น

1. มีการจับสารกลุ่มโพลีเมอร์ เช่นสารกลุ่ม glycoprotein หรือ glycocalyx ออกมานอกเซลล์ ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าว สามารถจับกับสารกลุ่ม tannins ได้ดี จึงทำให้ tannins ไม่สามารถจับกับโปรตีนของแบคทีเรียได้

2. สร้างเอนไซม์ออกมาย่อย tannins เช่น เอนไซม์ tannase, invertase และ  $\alpha$ -amylase หรือย่อยสารกลุ่ม tannins เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ของสมุนไพรมหาต่อ *Shigella* spp. สายพันธุ์แยกจากผู้ป่วย (ตารางที่ 14) จะเห็นว่าผงเป็นสมุนไพรมหาที่น่าสนใจที่สุดในการนำมาศึกษาต่อ เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella* ได้ทั้ง 2 สปีชีส์ ในขณะที่สมุนไพรมหาชนิดอื่นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้บางสปีชีส์เท่านั้น เมื่อนำสารสกัดหยาบแก่ผงด้วย alcohol มาแยกกลุ่มสารสำคัญออกเป็นส่วน ๆ ตามความมีขั้วของสารโดยวิธีทางโครมาโตกราฟี เพื่อจะหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ พบว่า fraction ที่ 2 มีปริมาณสารที่แยกได้มากที่สุดและมีฤทธิ์ต้านเชื้อดีที่สุดที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ fraction อื่น นำสารสกัดหยาบและ fraction ที่ 2 มาหาสารสำคัญ พบว่า ประกอบด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม ที่เหมือนกัน ได้แก่ flavonoids, anthraquinones, sterols และ triterpenes กลุ่มสารสำคัญที่ต่างกันคือในสารสกัดหยาบมี tannins เป็นองค์ประกอบด้วย ในขณะที่ใน fraction ที่ 2 ไม่พบ tannins แสดงว่า ใน แก่นผงสารกลุ่มสำคัญที่เป็นตัวออกฤทธิ์ต้านเชื้อไม่ใช่สารกลุ่ม tannins

เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มสารสำคัญที่พบในแก่นผงในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสอดคล้องกับผลการวิจัยที่เคยมีรายงานมาก่อน แสดงไว้ใน ตารางที่ 20

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบสารสำคัญในแก่นฝางที่พบในการทดลองกับที่มีการศึกษามาก่อน

สารสำคัญที่พบในการทดลอง	สารสำคัญที่มีผู้รายงาน	เอกสารอ้างอิง
flavonoids	flavonoids : 7-hydroxy-3-(4'-hydroxybenzylidene)-chroman-4-one : 3,7-dihydroxy-3-(4'-hydroxybenzyl)-chroman-4-one : 3,4,7-trihydroxy-3-(4'-hydroxybenzyl)-chroman : 4,4'-dihydroxy-2'-methoxychalcone : 8-methoxybonducellin : quercetin, rhamnetin และ ombuin : sappanol, 3'-O-methyl : sappanol, Epi :3'-O-methyl : sappanone, 3-Deoxy	Namikoshi <i>et al</i> , 1987a         Namikoshi <i>et al.</i> , 1987b
sterols	sterols : $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol	Oh <i>et al.</i> , 1998
triterpenes	triterpenes : taraxerol	Yadava and Nigam, 1987
tannins	tannins : tannic acid	Steinmetz, 1960