การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพล ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง

ณัฐนันท์ เจริญเลิศเดชกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

DEVELOPMENT OF *ZINGIBER CASSUMUNAR* ROXB. ESSENTIAL OIL LOADED SOLID LIPID PARTICLESFOR USE AS ANTIBACTERIALS AGAINST WOUND CAUSING BACTERIA

NUTTANAN CHAROUNLERTDAJKUL

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for

Master of Science in Thai Traditional Pharmacy

Academic Year 2018

Copyright of Bansomdejchaopraya Rajabhat University

b108300

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพล ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง

ณัฐนันท์ เจริญเลิศเดชกุล

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
วัน เดือน ปี 22 มี.ค. 2562
เลขทะเบียน 270738
หมู่เรียกหนังสือ
วน
615.321
ก433ก
2561

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย
ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง**
ชื่อผู้วิจัย **ณัฐนันท์ เจริญเลิศเดชกุล**
สาขาวิชา **เภสัชกรรมไทย**
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ**
ปีการศึกษา **2561**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันไพลในการต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของการเกิดแผลที่ผิวหนัง และ 2) เพื่อพัฒนาน้ำมันไพลให้อยู่ในรูปไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ซึ่งมีศักยภาพต่อยอดเป็นสารออกฤทธิ์ (Active ingredient) ในตำรับยาใช้เฉพาะที่บริเวณแผลผิวหนังได้ มีวิธีการดังนี้ Disk diffusion Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Minimum bactericidal concentration (MBC) Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (GC-MS) Gas Chromatography - Flame Ionization. Detector (GC-FID) เตรียมไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลโดยวิธี Melt dispersion method หาร้อยละการกักเก็บของน้ำมันไพล ร้อยละการปลดปล่อยของน้ำมันไพล วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิล และศึกษาความคงตัวของไมโครพาร์ทิเคิล สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ Mann Witney U test

ผลการวิจัยพบว่า

1. น้ำมันไพลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa,* Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654 และ DMST 20651, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

2. จากการพัฒนาน้ำมันไพลให้อยู่ในรูปไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่าสูตรตำรับที่ดีที่สุด ที่ให้ร้อยละการกักเก็บน้ำมันไพลสูงสุด และให้ไมโครพาร์ทิเคิลที่มีลักษณะทางกายภาพดี

ที่สุดคือตำรับที่ประกอบด้วย Plai oil 7.2 + Cetyl alcohol 5.5 + Poloxamer + SDS 5.78 +water 81.50 (w/w) ทั้งนี้สูตรตำรับดังกล่าวมีการปลดปล่อยน้ำมันไพลแบบเนินนานภายใน 24 ชม.

คำสำคัญ : น้ำมันหอมระเหยไพล, *Zingiber cassumunar* Roxb., ไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง, แบคทีเรีย, แผลผิวหนัง

Title **Development of *Zingiber cassumunar* Roxb. essential oil loaded solid lipid microparticles for use as antibacterials against wound causing bacteria**

Author **Nuttanan Charounlertdajkul**

Program **Master of Science in Thai Traditional Pharmacy**

Major Advisor **Assistant Professor Dr. Pilanthana Lertsatitthanakorn**

Co- Advisor **Assistant Professor Dr. Thien Thiraworawong**

Co- Advisor **Assistant Professor Dr. Vilasinee Hirunpanich Sato**

Academic Year **2018**

Abstract

The purposes of this research were to 1**)** study the concentrations of Zingiber cassumunar Roxb. (Plai**)** oil for anti **-** wound causing bacteria and 2**)** to develop the Plai oil in the form of solid lipid microparticles for use as antibacterials against wound causing bacteria**.** There are methods as follows: Disk diffusion method, Minimum Inhibition Concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC), Gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS), Gas Chromatography - Flame Ionization. Detector (GC-FID), solid lipid microparticles of Plai oil was prepared by melt dispersion method. Percentage of entrapment efficiency, diameter of solid lipid microparticles, percentage of Plai oil release, the diameter of the solid lipid microparticles and stability of the solid lipid microparticles were determined. The statistics used in data analysis were mean, standard deviation and Mann Witney U test.

The finding revealed as follows**:**

1**.** Plai oil has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* **(**MRSA**)**, DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654 and DMST 20651, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*

2**.** Development of Plai oil loaded solid lipid microparticles revealed that the best microparticles formulation, possessing highest percentage entrapment efficiency and physical stability, consisted of %w/w of Plai oil 7.2, of Cetyl alcohol 5.5, of Poloxamer 5.62, of SDS 0.16, of water 81.50**.** Plai oil was released of this formula with sustained release - manner for 24 hours.

Keywords : Plai essential oil, *Zingiber cassumunar* Roxb., Microparticles, Bacteria , Wound

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาที่เป็นสถานที่ศึกษาและสาขาวิชาเภสัชกรรมไทย มีห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ที่มีเครื่องมือ ให้นักศึกษาใช้ในภาคปฏิบัติ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม ชุดโครงการอุสาหกรรมการแพทย์ครบวงจร ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของคณะอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้ความกรุณาในการให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของงานวิจัยและให้กำลังใจเสมอมา

คุณค่าและความสำเร็จของงานวิจัยฉบับนี้ขอมอบให้ครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาการ ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจนำไปศึกษาและพัฒนาต่อยอดต่อไป

ณัฐนันท์ เจริญเลิศเดชกุล

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ค
กิตติกรรมประกาศ		จ
สารบัญ		ฉ
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญภาพ		ญ
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
	ขอบเขตการวิจัย	2
	ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	2
	นิยามศัพท์เฉพาะ	2
	กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	5
	แผล	5
	เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง	7
	สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง	24
	น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร	25
	ระบบนำส่งยา	26
	การนำส่งยาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล	29
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	34
บทที่ 3	**การดำเนินการวิจัย**	37
	เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	37
	ขั้นตอนการวิจัย	40
	สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	43

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 4	**ผลการวิเคราะห์ข้อมูล**	44
	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันไพลด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (GC-MS)	44
	ผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันไพล โดยวิธี Disk diffusion.	46
	ผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลติดเชื้อต่อน้ำมันไพล โดยวิธี broth microdilution method	49
	ผลการพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล	50
	ผลหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%EE)	52
	ผลของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก มาทดสอบการปลดปล่อยเพื่อวัดปริมาณของน้ำมันไพลที่ปลดปล่อยออกมา และหาเวลาระยะเวลาการปลดปล่อยน้ำมันไพลเปรียบเทียบกับน้ำมันไพลในรูปอิสระ	52
	ผลของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ ด้วยเครื่อง Particle size analyze	55
	ผลความคงตัวของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก ภายใต้สภาวะเร่ง	56
บทที่ 5	**สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ**	58
	สรุปผลการวิจัย	58
	อภิปรายผล	61
	ข้อเสนอแนะ	62
	ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป	62
บรรณานุกรม		63
ภาคผนวก		68
	ภาคผนวก ก รูปภาพตัวอย่างผลการทดลอง Disk diffusion	69
	ภาคผนวก ข รูปภาพตัวอย่างผลการทดลอง MIC	71
	ภาคผนวก ค หนังสือตอบรับทบความ	73
ประวัติผู้วิจัย		75

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สูตรตำรับที่ใช้ในการผลิต SLM ของน้ำมันไพล	44
2	แสดงองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยไพล	44
3	แสดงความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันหอมระเหยไพลโดยวิธี Disk diffusion	47
4	แสดงความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันไพล โดยวิธี broth microdilution method	49
5	สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งใส่ Curcumin เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method	51
6	สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method	51
7	แสดงค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญใส่ Curcumin (%EE) ของ SLM	52
8	แสดงค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%EE) ของ SLM	52
9	แสดง % Cumuloative release ของ SLM	54
10	แสดง % Cumuloative release ของน้ำมันหอมระเหยไพล	54
11	แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจากตำรับที่ดีที่สุดด้วยเครื่อง Particle size analyzer	55
12	แสดงปริมาณขนาด SLM	56
13	แสดงร้อยละการปลดปล่อยของน้ำมันไพล เติมลักษณะทางกายภาพ	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวคิดในการทำวิจัย	4
2	ไมโครสเฟียร์ (microsperes)	30
3	ไมโครแคปซูล (microcapsules)	30
4	ลักษณะทั่วไปของไมโครพาร์ทิเคิล	31
5	โครมาโทแกรมแสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยไพล	46
6	กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Curcumin	50
7	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและพื้นที่ใต้กราฟของ SLM ที่ไม่เติม Crucumin	53
8	แสดง peak area ของสารจากน้ำมันหอมระเหยไพลทั้งหมด	53
9	กราฟแสดงความสำพันธ์ระหว่างเวลากับ Cumulative %release เทียบกันของ SLM และน้ำมันหอมระเหยไพล	55
10	Inhibition zone ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840	70
11	Inhibition zone ของเชื้อ MRSA DMST 20652	70
12	Well 96 หลุมที่มีเชื้อ MRSA DMST 20652	72
13	Well 96 หลุมที่มีเชื้อ MRSA DMST 20649	72

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไพล เป็นพืชสมุนไพรที่มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber cassumunar* Roxb. เป็นพืชที่พบมากในประเทศไทย ส่วนประกอบในเหง้าไพลที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญได้แก่น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) และสาร (E)-1-(3, 4-dimethoxyphenyl) butadiene (DMPBD) ซึ่งสารออกฤทธิ์ทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัดคือฤทธิ์แก้ปวดและฤทธิ์ต้านการอักเสบ (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2551; สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2559) แต่ DMPBD เป็นสารบริสุทธิ์จากไพลที่แยกได้ในปริมาณน้อย น้ำมันหอมระเหยซึ่งกลั่นได้จากเหง้าไพลในปริมาณที่มากกว่าจึงมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์ยาทาภายนอกสำหรับแก้ปวดและแก้อักเสบโดยไม่มีรายงานอาการแพ้หรือระคายเคืองผิวหนัง (ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553) และพบว่าน้ำมันไพลมีฤทธิ์กว้างในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Pithayanukul P *et al.,* 2007) จึงมีศักยภาพในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียบริเวณเท้าของผู้ป่วย

ข้อจำกัดของน้ำมันหอมระเหย คือ มีจุดเดือดต่ำจึงระเหยได้ง่ายและมีความคงตัวต่ำ เทคนิคไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid lipid microparticles, SLM) เป็นกระบวนการห่อหุ้มตัวยาที่ช่วยป้องกันการเสื่อมสลายและเพิ่มความคงตัวของตัวยาที่เป็นน้ำมันหอมระเหย ช่วยชะลอการสัมผัสผิวหนังของน้ำมันหอมระเหยโดยตรง อีกทั้งเป็นเทคนิคที่สามารถขยายขนาดการผลิตได้ง่าย (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ , 2552) ดังนั้นการเตรียมน้ำมันไพลในรูปไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจึงเป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการห่อหุ้มน้ำมันไพลซึ่งเป็นน้ำมันที่ก่อให้เกิดความแสบร้อนต่อผิวหนังเมื่อแรกสัมผัส และยังช่วยกลบกลิ่นน้ำมันไพลได้ อาจกล่าวได้ว่าหากพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง ไมโครพาร์ทิเคิลดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ (Active ingredient) ในตำรับยาใช้เฉพาะที่บริเวณแผลได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันไพลในการต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของการเกิดแผลที่ผิวหนัง

2. เพื่อพัฒนาน้ำมันไพลให้อยู่ในรูปไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ซึ่งมีศักยภาพต่อยอดเป็นสารออกฤทธิ์ (Active ingredient) ในตำรับยาใช้เฉพาะที่บริเวณแผลผิวหนังได้

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันไพลในการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบบริเวณแผลของผิวหนังทั่วไป ตรวจสอบสารสำคัญในน้ำมันไพล และพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid lipid microparticles, SLM) ของน้ำมันไพล ที่สามารถกักเก็บน้ำมันไพลในความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

สามารถนำไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของแผลผิวหนังในผลิตภัณฑ์ใช้ภายนอก

นิยามศัพท์เฉพาะ

MIC หมายถึง minimum inhibitory concentration คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่มองเห็นได้

MBC หมายถึง minimum bactericidal concentration คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ทำให้แบคทีเรียรอดชีวิตน้อยกว่า 0.1% ของจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น

Disk diffusion method หมายถึง การที่ให้สารต้านเชื้อจุลชีพปริมาณแน่นอนแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง (Filter paper Disc) รูปกลมออกไปทุกทิศทางเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารแข็งหลักจากการบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมจะนำจานเพาะเชื้อออกมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยวัดจากขอบวงที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพผ่านแผ่นกระดาษกรองไปยังของวงอีกด้านหนึ่ง ใช้หน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

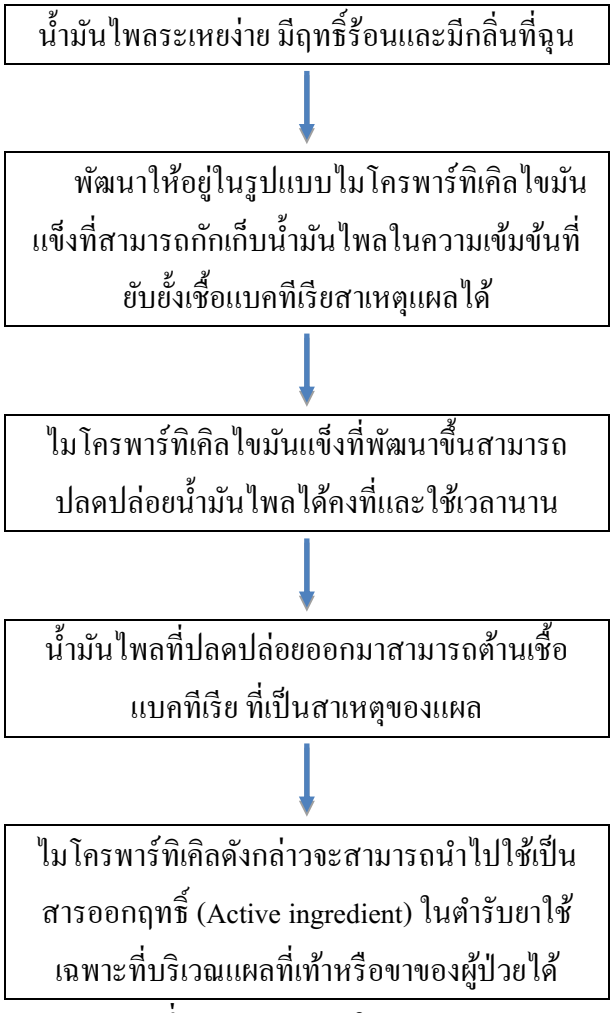
Broth microdilution method หมายถึง การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยใช้สารที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างกันผสมกับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อหาค่า MIC

MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถทนหรือดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม methicillin ได้

ไมโครพาร์ทิเคิล (micro-particles) หมายถึงอนุภาคขนาดไมโครเมตร (micrometer) ที่ได้จากการพัฒนาด้วยเทคนิค encapsulation เพื่อเก็บกักสารสำคัญต่างๆ และเพิ่มความคงตัวของ

Melt dispersion method หมายถึง กระบวนการหลอมไขมันแข็ง แล้วเติมสาระสำคัญผสมกับน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิว จากนั้นทำให้เย็นโดยทันที

กรอบแนวคิดในการทำวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการทำวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. แผล
2. เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง
3. สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง
4. น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร
5. ระบบนำส่งยา (Drug delivery system)
6. การนำส่งยาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แผล

เนื้อเยื่ออ่อนฉลายหรือบาดแผล (Wound) หมายถึง รอยฉีกขาดหรือรอยแตกแยกของผิวหนังหรือ เยื่อบุ ซึ่งเป็นการขัดขวางการทำงานตามหน้าที่และการเจริญเติบโตของเซลล์ บาดแผลโดยทั่วๆ ไป แบ่งได้ 2 ชนิด คือ บาดแผลเปิดและบาดแผลปิด บาดแผลปิด ได้แก่ บาดแผล ฟกช้ำ (Contusions หรือ Bruises) หรือบาดแผลห้อเลือด (Hematoma)

1. บาดแผลปิด (Closed wounds)

บาดแผลปิดเกิดจากการได้รับอันตรายจากวัตถุที่ไม่มีคม ทำให้เกิดฟกช้ำ ผิวหนังไม่มีฉีกขาด แต่มีหลอดเลือดใต้ผิวหนังแตกทำให้ห้อเลือด (Hematoma) ถ้าถูกแรงมากจะทำให้อวัยวะภายใน

แตกหรือกระดูกหักได้ การฟกช้ำที่เห็นจากภายนอกเพียงเล็กน้อยอาจจะเกิดความรุนแรงอยู่ภายในก็ได้

ข้อชี้บ่งของบาดแผลปิด

ลักษณะของบาดแผลปิดจะแดงและกดเจ็บ อาการบวมจะเกิดตามมา เลือดที่ออกจะแทรกซอนไปยัง เนื้อเยื่อทำให้ผิวหนังเปลี่ยนสี หรือเกิดเป็นสีดำปนน้ำเงิน

การปฐมพยาบาลบาดแผลปิด

ถ้าเป็นบาดแผลเล็กๆ ไม่จำเป็นต้องส่งให้แพทย์รักษา ดังนั้นทันทีที่เป็นบาดแผลปิด ควรใช้ความเย็นประคบ เพราะความเย็นช่วยห้ามเลือดที่ออกอยู่ใต้ผิวหนัง จากนั้นพันผ้าไว้อย่างไรก็ตามถ้าบาดแผลไม่หายหรือมีความรุนแรงมากควรนำส่งให้แพทย์รักษาต่อไป

2. บาดแผลเปิด (Open wounds)

บาดแผลเปิดเกิดจากถูกวัตถุที่มีคม ทำให้ผิวหนังฉีกขาด บาดแผลเปิดแตกต่างกันตามความรุนแรง และชนิดของวัตถุที่ทำให้เกิดบาดแผล ถ้าถูกเหล็กเซาะน้ำแข็งแทงบาดแผลจะเป็นรู ถ้าถูกกระจกบาด บาดแผล จะกระรุ่งกระริ่ง บาดแผลเปิดโดยทั่วๆ ไป จำแนกออกเป็นบาดแผลถลอก (Abrasions), บาดแผลถูกแทง (Punctures), บาดแผลถูกฟัน (Incisions), บาดแผลฉีกขาด (Lacerations), บาดแผลของเนื้อเยื่ออ่อนถูกตัด (Avulsion), บาดแผลแตกช้ำ (Crushing injuries) และบาดแผลถูกตัดขาด (Amputation)

บาดแผลถลอก (Abrasions) เป็นบาดแผลที่เกิดจากการถูกขีดข่วน ถูกถู หรือถูกครูด บาดแผล ชนิดนี้จะตื้นเพียงแค่ผิวหนังชั้นนอกเท่านั้น และมีเลือดออกเล็กน้อย อันตรายของบาดแผลอยู่ที่บาดแผลมีการติดเชื้อ บาดแผลถลอกที่พบได้เสมอคือ การหกล้ม เข่าถลอก

3. การติดเชื้อ (Infection)

บาดแผลใดๆ ก็ตาม หากได้รับเชื้อจุลินทรีย์จะเกิดการติดเชื้อ ชนิดของบาดแผลที่ง่ายต่อการติดเชื้อมากที่สุดคือ บาดแผลถูกแทง บาดแผลแตกช้ำและบาดแผลฉีกขาด บาดแผลดังกล่าวเลือดไหลออกไม่สะดวก และผิวหนังฉีกขาดปิดรูแผลสกัดกั้นอากาศที่เข้าไปในบาดแผล เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้บาดแผลมีการติดเชื้อ ได้แก่ เชื้อบาดทะยัก (*Tetanus bacillus*) คลอสทิเดียม เวลไช (*Clostidium welchi*) สเตร็ปโตคอคไค (*Streptococci*) สแต็ปฟิโลคอคไค (*Staphylococci*) อี โคไล (*E.coli*) บาดแผลที่ทำให้เกิดโรคบาดทะยัก และเนื้อตาย (Gangrene) ส่วนใหญ่จะเป็นบาดแผลถูกแทง เพราะเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทั้งสองชนิดนี้ ไม่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต

ข้อชี้บ่งของบาดแผลติดเชื้อ

บาดแผลติดเชื้อจะมีสีแดง คลำดูรู้สึกร้อน ปวด บวม มีหนอง ในระยะ 3-4 วันต่อมา และปวดตับๆ การติดเชื้อจะเกิดขึ้นหลังจากหกชั่วโมงถึงสี่วัน และถ้ารอบบาดแผลมีรอยแดงเป็นทางชัดเจนแสดงว่าการติดเชื้อ ของบาดแผลกำลังกระจายกว้างออกไปตามหลอดน้ำเหลือง ซึ่งในกรณีนี้น่าจะได้รับการดูแลจากแพทย์ (วิรัตน์ ศรีนพคุณและศรี ศรีนพคุณ, 2543)

4. ความสะอาดของแผล

1. แผลสะอาด หมายถึงแผลที่ไม่มีอาการของการติดเชื้อ กำลังอยู่ในระยะการหายของแผล (Healing process) ได้แก่ แผลถูกของมีคมบาดหรือตัด แผลผ่าตัดที่ไม่ได้ผ่านเข้าสู่ช่องปาก ทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ อวัยวะสืบพันธุ์ และทางเดินปัสสาวะ

2. แผลสกปรก เป็นบาดแผลที่มีการปนเปื้อนหรือมีอาการของการติดเชื้อโรค

2.1 แผลที่มีการปนเปื้อน เช่น แผลถลอก แผลฉีกขาด แผลผ่าตัดที่ผ่านเข้าสู่ช่องทางดังที่กล่าวมาแล้ว โดยมีการเตรียมเพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อน และแผลผ่าตัดที่เกิดจากการผ่าตัดเข้าสู่บริเวณ ที่มีการอักเสบ เช่น ถุงน้ำดีอักเสบ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ แผลเปิดลำไส้ใหญ่และผิวหนังอักเสบ เป็นต้น

2.2 แผลติดเชื้อ เป็นแผลที่มีอาการของการติดเชื้อโรค เกิดการอักเสบลุกลามออกไปเป็น บริเวณกว้าง อาจมีหนองทำให้เนื้อเยื่อตาย ใช้เวลานานกว่าแผลจะหาย แผลติดเชื้อส่วนใหญ่มักเป็นบาดแผล อุบัติเหตุที่มีเนื้อตายมาก มีวัตถุแปลกปลอม มีการปนเปื้อนมาก และ/หรือรับการรักษาช้าไปตลอดจนแผลผ่าตัดเข้าสู่โพรงหนอง หรือเพื่อแก้ไขในรายที่ถูกแทงหรือมีอวัยวะภายในช่องท้องแตกหรือทะลุจากอุบัติเหตุ เป็นต้น (วรมนต์ ตรีพรหม, 2531)

เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

1. **แบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus***

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นเชื้อที่พบอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและพบอาศัยอยู่ตามผิวหนัง ต่อมใต้ผิวหนัง และเยื่อเมือกบุผิวในคน การก่อโรคของเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* มักพบได้หากมีบาดแผลบริเวณผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิว ทำให้เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายและก่อให้เกิดโรคได้ สปีชีส์ที่พบก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในคนได้บ่อยชนิดหนึ่ง คือ *Staphylococcus aureus* (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram-positive cocci) จัดอยู่ในวงศ์ Staphylococcaceae ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน มีการเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grape-like cluster) ชื่อเชื้อมาจากภาษากรีกคือ “staphylé” แปลว่าพวงองุ่น (a bunch of grapes) จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอน จัดอยู่ในพวก facultative anaerobe หรือแบคทีเรียที่เจริญได้โดยมีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (Potential of Hydrogen Ion, pH) อยู่ระหว่าง 4.8-9.4 สามารถเจริญในที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 10% และเจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 องศาเซลเซียสเชื้อ

สามารถทนความแห้งและทนความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 30 นาที เชื้อสร้างเอนไซม์ catalase ได้ซึ่งใช้เป็นคุณสมบัติในการจำแนกเชื้อ *S. aureus* ออกจาก *Staphylococcus* สปีชีส์อื่น เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง เชื้อ *S. aureus* จะให้โคโลนีสีขาว-เหลือง ขอบเรียบ มันวาว มีลักษณะคล้ายเนย (butyrous) (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus*

การก่อโรคของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ที่สำคัญเกิดจากการบุกรุกและทำลายชั้นเนื้อเยื่อโดยตรง และจากการสร้างสารคัดหลั่งหลายชนิดเช่นเอนไซม์และสารพิษต่างๆที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ มีปัจจัย 3 กลุ่ม คือ โครงสร้างเซลล์, เอนไซม์ และสารพิษ

1. โครงสร้างเซลล์ ส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะโปรตีนที่ผนังเซลล์ (cell wall protein) ได้แก่ โปรตีน A จะไปเกาะติดกับส่วน crystallizable fragment (Fc) ของอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgG (Immunoglobulin; IgG) ซึ่งเป็นส่วนที่ปกติแอนติบอดีใช้ในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการยับยั้งการกลืนเข้ากินแบคทีเรียของเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้สารโปรตีนหลายชนิดในบริเวณผิวเซลล์มีส่วนในการช่วยให้เชื้อสามารถเกาะติดกับส่วนประกอบต่างๆของเนื้อเยื่อ เช่น เส้นใย collagen, fibronectin และ elastin

2. เอนไซม์ เชื้อ *S. aureus* จัดเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงกว่าสปีชีส์อื่นๆ ในกลุ่ม ส่วนหนึ่งเกิดจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการก่อโรค ได้แก่

2.1 Coagulase แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือส่วนที่อยู่บนผนังเซลล์หรือ bound coagulase (clumping factor) และส่วนที่ถูกปล่อยออกมาสู่ภายนอกหรือ free coagulase เอนไซม์ coagulase กระตุ้นให้เปลี่ยนเส้นใย fibrinogen เป็น fibrin ซึ่งสามารถเกาะกับผิวเซลล์แบคทีเรียและทำให้เชื้อเกิดการรวมตัวเป็นกลุ่ม มีปลอกช่วยปกป้องเชื้อจากขบวนการ phagocytosis และการถูกทำลายโดนแอนติบอดี การสะสมของเส้นใย fibrin ยังมีส่วนทำให้เกิดผนังล้อมรอบบริเวณที่ติดเชื้อเกิดเป็นฝีหนอง (abscess) bound coagulase สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง fibrin โดยตรง ในขณะที่ free coagulase ออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยากับ globulin plasma factor (coagulase-reacting factor) เกิดเป็นสาร Staphylothrombin ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการเปลี่ยนแปลง fibrinogen เป็น fibrin ต่อไป

2.2 Catalase หลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวจับกินเชื้อแบคทีเรียโดยขบวนการ phagocytosis จะเกิดการสร้างสาร hydrogen peroxide และอนุมูลอิสระที่เป็นพิษเพื่อทำลายเชื้อแปลกปลอม เอนไซม์ catalase มีฤทธิ์ในการสลาย hydrogen peroxideให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจนเพื่อปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากการถูกทำลายในเซลล์เม็ดเลือดขาว

2.3 Hyaluronidase (spreading factor) ออกฤทธิ์สลายกรด hyaluronic ที่พบเป็นส่วนประกอบของ connective tissue ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจาย ก่อให้เกิดการติดเชื้อลุกลามในชั้นเนื้อเยื่อได้

2.4 Staphylokinase (fibrionolysin) ออกฤทธิ์เปลี่ยน plasminogen เป็น plasmin ทำให้เกิดการของสลายก้อนลิ่มของเส้นใย fibrin ในบริเวณที่ติดเชื้อ จึงมีส่วนช่วยในการกระจายลุกลามของเชื้อในชั้นเนื้อเยื่อ

2.5 Lipase มีฤทธิ์สลายสารไขมัน จึงมีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อในชั้นผิวหนังและใต้ผิวหนัง ซึ่งประกอบด้วยต่อมไขมันและเนื้อเยื่อไขมัน

2.6 β-lactamase เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* มีการพัฒนาการดื้อยา penicillin ขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากเริ่มมีการใช้ยาทางคลินิก ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเอนไซม์ β-lactamase โดยยีนส์บนพลาสมิดและทำให้เชื้อดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม β-lactams อื่นอีกหลายชนิด ปัจจุบันสายพันธุ์ของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ได้

3. สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์หรือเอกโซทอกซิน (exotoxin)

3.1 staphylococcal enterotoxin เป็นสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ชนิดทนความร้อน (heat-stable exotoxin) แบ่งเป็น 5 ชนิด คือ A, B, C (C_1, C_2, C_3), D และ E ชนิดที่พบว่าก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) บ่อยที่สุดคือชนิด A และ E สารพิษนี้สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และยังทนต่อสภาวะความเป็นกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารอีกด้วย ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ภายหลังจากการได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายเป็นเวลา 1 – 6 ชั่วโมง

3.2 toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) เดิมชื่อ staphylococcal enterotoxin F หรือ pyrogenic exotoxin C พบการสร้างสารพิษชนิดนี้ในเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณช่องคลอด สารพิษนี้จัดเป็น superantigen มีความสามารถกระตุ้นระบบต่างๆของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ อุจจาระร่วงชนิดเป็นน้ำ (watery diarrhea) มีภาวะขาดน้ำ (dehydration) คลื่นไส้ อาเจียน ในบางรายมีอาการรุนแรง อาจเกิดอาการช็อก ตับไตวายและเสียชีวิตในที่สุด

3.3 exfoliative toxin หรือ exfoliatin หรือ epidermolysin เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (epidermal layer) ทำให้ชั้นหนังกำพร้าหลุดลอกออกไป ก่อให้เกิดกลุ่มอาการผิวหนังหลุดลอก (staphylococcal scalded skin syndrome; SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's disease)

3.4 cytolytic toxin เป็นกลุ่มของสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อทำลายเซลล์ของร่างกาย ได้แก่ hemolysin หรือ staphylolysin ชนิดแอลฟา, บีตา, และเดลตา ฮีโมไลซินมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดแดง ส่วน staphylococcal หรือ Penton-Valentine leukocidinมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวและป้องกันการกลืนกินของเม็ดเลือดขาว (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. aureus*

ลักษณะสำคัญของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* คือเกิดการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งที่ติดเชื้อที่เรียกว่า suppurative (หรือ pyogenic) infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เอนไซม์ coagulase กระตุ้นการจับกลุ่มของเส้นใย fibrin ทำให้เกิดการสร้างผนังขึ้น ล้อมรอบรอยโรคเกิดเป็นก้อนฝี ซึ่งภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่เน่าตายรวมตัวกันเป็นหนอง อย่างไรก็ตาม เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย ทำให้สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบได้ โรคติดเชื้อ *S. aureus* ที่สำคัญได้แก่

1. โรคติดเชื้อของชั้นผิวหนัง ได้แก่

1.1 Impetigo พบได้บ่อยในเด็กเล็ก ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* อาการเริ่มจากมีผื่นเป็นจุดแดง (macule) ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นตุ่มหนอง (pustule) และแตกออกเป็นสะเก็ดแห้งกรัง เชื้อสามารถกระจายสู่บริเวณข้างเคียงได้รวดเร็ว ทำให้เห็นผื่นแดงและตุ่มหนองปนกันอยู่ทั่วไป

1.2 Folliculitis เป็นการอักเสบเป็นหนองภายในรูขุมขน ทำให้เป็นตุ่มหนองบวมแดงขนาดเล็ก

1.3 Furuncle (boil) เป็นการอักเสบรุนแรงของรูขุมขน เกิดเป็นฝีหนองขนาดใหญ่และมีเนื้อเยื่อเน่าตาย มีอาการเจ็บปวด

1.4 Carbuncle เป็นฝีหนองขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของฝี furuncle ในตำแหน่งข้างเคียงและมีการขยายขนาดลุกลามเนื้อเยื่อชั้นลึก เชื้อสามารถกระจายเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง หนาวสั่น และเกิดการติดเชื้อตามระบบร่วมด้วยได้

1.5 Wound infection ผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุหรือแผลผ่าตัด ทำให้เชื้อ *S. aureus* ที่อาศัยบนผิวหนังหรือบนวัตถุแปลกปลอมที่ทะลุผ่านชั้นผิวหนัง สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อของบาดแผล ทำให้แผลบวม แดง เจ็บ และมีหนองปน

1.6 staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) อาจเรียกว่า Ritter's disease ตามชื่อแพทย์ผู้อธิบายโรคนี้เป็นครั้งแรกคือ Gottfried Ritter von Rittershain ในปีค.ศ.1878 ผู้ป่วย

ส่วนใหญ่เป็นทารกและเด็กเล็ก เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง exfoliative toxin อาการเริ่มจากการบวมแดงของผิวหนังอย่างเฉียบพลันและกระจายไปทั่วตัวอย่างรวดเร็วใน 1-2 วัน ต่อมาจะกลายเป็นตุ่มน้ำขนาดใหญ่ ภายในมีสารน้ำใสที่มักตรวจไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือเชื้อก่อโรคเนื่องจากการเกิดโรคเป็นผลจากสารพิษ จากนั้นจึงเกิดการหลุดลอกออกของผิวหนังชั้น epithelium อาการหายไปได้เองและมีการสร้างผิวหนังใหม่ขึ้นแทนใน 1 - 2 สัปดาห์หลังจากที่ร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อสารพิษ อัตราการเสียชีวิตต่ำ ยกเว้นแต่มีภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อซ้ำในระหว่างที่ร่างกายไม่มีผิวหนังชั้น epithelium ปกคลุม การลอกของผิวหนังดังกล่าวไม่ทำให้เกิดแผลเป็น

1.7 Bullous impetigo มักพบในทารกและเด็กเล็ก ผู้ป่วยมีตุ่มน้ำขนาดใหญ่คล้ายโรค SSSS แต่เกิดขึ้นเฉพาะที่ไม่กระจายไปทั่วร่างกาย ทั้งนี้เป็นผลจากการติดเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสารพิษจำเพาะซึ่งทำให้เกิดอาการเฉพาะที่เท่านั้นเช่นสายพันธุ์ phage type 71 สารน้ำภายในตุ่มน้ำมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ ทำให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญ

2. โรคติดเชื้อในระบบไหลเวียน ภาวะติดเชื้อในเลือด (bacteremia) จากเชื้อ *S. aureus* พบได้บ่อย ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ยังพบเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้จากการติดเชื้อของบาดแผลผ่าตัดหรือการใส่สายให้สารน้ำทางเส้นเลือด เชื้อที่อยู่ในเลือดอาจทำให้เกิดการติดเชื้อของอวัยวะอื่น โดยเฉพาะโรคลิ้นหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (acute infective endocarditis) ซึ่งถือเป็นภาวะที่อันตรายและมีอัตราการเสียชีวิตสูง เชื้อ *S. aureus* ถือเป็นสาเหตุก่อโรคดังกล่าวที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติฉีดยาเสพติดเข้าทางเส้นเลือดถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ ในบางราย เชื้อที่เจริญเป็นกลุ่มก้อนบนลิ้นหัวใจที่เรียกว่า vegetation อาจหลุดเข้าสู่กระแสเลือดไปอุดตันเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะอื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อตายจากการขาดเลือดและการทำงานของอวัยวะนั้นล้มเหลวอย่างรวดเร็วได้ เรียกภาวะดังกล่าวว่า embolism

3. โรคติดเชื้อของระบบหายใจ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจที่สำคัญได้แก่ โรคปอดบวม (pneumonia) โดยได้รับเชื้อได้จาก 2 ทางคือทางเลือด (hematogenous pneumonia) และทางการสำลักสารคัดหลั่งในช่องปาก (aspisaton pneumonia) เชื้อที่ผ่านมาทางกระแสเลือด เกิดจากมีการติดเชื้อในตำแหน่งอื่นๆเช่นบาดแผลหรือลิ้นหัวใจ การสำลักเชื้อลงสู่ปอด มักพบได้ในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีการติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจ เช่น chronic obstructive pulmonary disease (COPD) ในบางรายอาจทำให้เกิดฝีหนองขึ้นในปอด (lung abscess) ผู้ป่วยบางส่วนอาจเกิดการติดเชื้อชนิดเป็นหนองภายในช่องเยื่อหุ้มปอด (empyema) ร่วมด้วย

4. โรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหาร ที่พบได้บ่อยได้แก่โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลจากการได้รับสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหารมากกว่าการได้รับเชื้อเข้าสู่ทางเดินอาหารโดยตรง (intoxication) เชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารมักมาจากผู้ปรุงอาหารที่มีการติดเชื้อ *S. aureus* บริเวณผิวหนัง หรือเป็นพาหะนำเชื้อที่ไม่แสดงอาการ การปรุงอาหารด้วยความร้อนสามารถฆ่าเชื้อได้ แต่ไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของสารพิษ เนื่องจากเป็นการได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ผู้ป่วยจึงเกิดอาการได้อย่างรวดเร็ว อาการมักเริ่มภายใน 2-8 ชั่วโมงภายหลังกินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ ส่วนใหญ่มีอาการอาเจียนรุนแรง ถ่ายเหลวและปวดท้องโดยไม่มีไข้ อาการหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมงการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารนั้นไม่มีความจำเป็นเนื่องจากส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อภูมิคุ้มกันต่อสารพิษเกิดขึ้นเพียงระยะสั้น ทำให้ผู้ป่วยสามารถเกิดโรคซ้ำได้การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานานในผู้ป่วยบางรายอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ (enterocolitis) เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ลดลงอย่างมาก จนทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆได้ง่าย เชื้อ *S. aureus* พบเป็นสาเหตุได้ไม่บ่อยเมื่อเทียบกับเชื้อ *Clodtridium difficle* ที่พบเป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการติดเชื้อของลำไส้ในภาวะดังกล่าว

5. โรคติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อผ่านทางกระแสเลือด ในบางรายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากบาดแผลที่ลุกลามจากชั้นผิวหนัง ในเด็กมักเกิดการติดเชื้อในตำแหน่ง metaphysis ของกระดูกท่อนยาว (long bone) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก ในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบการติดเชื้อของกระดูกสันหลัง การติดเชื้อในบริเวณ metaphysis ของกระดูกท่อนยาวในผู้ใหญ่มักทำให้เกิดเป็นฝีหนองที่เรียกว่า Brodie's abscess ทำให้เกิดไข้สูงร่วมกับอาการเจ็บปวดเฉียบพลันในตำแหน่งที่ติดเชื้อ การรักษาอาจอาศัยการผ่าตัดร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุที่พบบ่อยสำหรับโรคข้ออักเสบติดเชื้อ (septic arthritis) ในเด็กและในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบเป็นภาวะแทรกซ้อนจากการฉีดสารเข้าข้อ หรือในผู้ที่มีความพิการของข้ออยู่เดิม อาการสำคัญคือข้อบวมแดงและปวด ภายในข้อจะเกิดการอักเสบเป็นหนอง เชื้ออาจพลัดเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปสู่ข้ออื่นๆได้

6. ระบบสืบพันธุ์กลุ่มอาการ Toxic shock syndrome (TSS) เกิดจากการติดเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษ toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (menstruating TSS) และกลุ่มไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (non-menstruating TSS) ในกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนพบได้ในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยชนิดสอด (tampon) ซึ่งเชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษในเลือดที่ถูกดูดซับอยู่ในผ้าอนามัยภายในช่องคลอด ในกลุ่มที่ไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนมักเกิดจากการติดเชื้อของบาดแผล ซึ่งพบทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การติดเชื้อ *S. aureus* เฉพาะที่นี้ก่อให้เกิดการสร้าง

TSST-1 ปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดโดยไม่พบเชื้อในเลือด สารพิษนี้มีคุณสมบัติเป็น superantigen ที่สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง cytokine หลายชนิดในปริมาณสูงผิดปกติ ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการไข้สูงเฉียบพลัน มีผื่นแดงและเกิดการหลุดลอกของผิวหนังกระจายไปทั่วตัว รวมถึงบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้า การทำงานของระบบไหลเวียนเลือดผิดปกติ ทำให้มีการเสียสารน้ำออกนอกเส้นเลือด ความดันเลือดลดต่ำลง การทำงานของระบบต่างๆล้มเหลวและเกิดอาการช็อกได้ หากผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องทันท่วงที อัตราการเสียชีวิตจากโรคนี้จะลดลงอย่างมาก แอนติบอดีต่อสารพิษที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังเกิดโรคสามารถป้องกันการเกิดโรคซ้ำได้ แต่พบว่าผู้ป่วยส่วนน้อยที่เป็นโรค TSS มีการสร้างแอนติบอดีดังกล่าวการกระจายของเชื้อ *S. aureus* ผ่านทางกระแสเลือดอาจทำให้เกิดโรคติดเชื้อในอวัยวะอื่นๆที่อาจพบได้แต่ไม่บ่อย เช่นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) และโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

นอกจากเชื้อ *S. aureus* จะพบเป็นสาเหตุก่อโรคในคนได้บ่อยแล้ว ปัญหาสำคัญในปัจจุบันที่พบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องคือการติดเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยาโดยเฉพาะยากลุ่ม penicillinase-resistant penicillins เช่น methicillin ซึ่งเป็นยาหลักในการรักษา เรียกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ว่า methicillin-resistant *S. aureus* หรือ MRSA (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

ปัญหาและกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

ยา penicillin G เป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลกที่นำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ โดยโครงสร้างยาในส่วน β-lactam จะเข้าไปจับกับส่วน PBPs (penicillin binding proteins) ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะของโมเลกุล peptidoglycan ในผนังเซลล์แบคทีเรียเมื่อ PBPs ถูกยับยั้ง การสร้างผนังเซลล์จึงไม่สมบูรณ์เกิดการยับยั้งเชื้อขึ้น หลังจากนั้นการนำ penicillin G ออกไปใช้อย่างไม่ถูกวิธีทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยาขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรียได้พัฒนาการสร้างเอนไซม์ penicillinase ขึ้นซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม β-lactamase ไปสลาย β-lactam ในโครงสร้างของยากลุ่ม penicillins เกิดการดื้อต่อยา penicillin หรือยาที่มีโครงสร้างใกล้เคียงในการรักษา ยีนส์ควบคุมการสร้างเอนไซม์ penicillinase พบอยู่บนพลาสมิดที่สามารถถูกถ่ายทอดได้ทำให้การดื้อยาเกิดการกระจายได้รวดเร็ว ปัจจุบันสายพันธุ์มากกว่า 90% ของเชื้อในกลุ่ม *staphylococcus* สามารถสร้างเอนไซม์นี้ เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยานี้จึงมีการพัฒนายากึ่งสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่ม penicillinase-resistant penicillins (PRP) ขึ้น เช่น nafcillin, oxacillin และ methicillin โดยยากลุ่มนี้สามารถทนต่อเอนไซม์ penicillinase แต่ไม่นานก็มีการดื้อยาเกิดขึ้นอีก โดยเชื้อแบคทีเรียได้สร้าง PBP ชนิดพิเศษที่เรียกว่า PBP2a ขึ้น ซึ่ง PBP2a มีคุณสมบัติจับกับยาในกลุ่ม β-lactams ได้ต่ำมาก ยากลุ่ม PRP จึงใช้ไม่ได้ผล เชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม PRP นี้เรียกว่า

methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) จากการศึกษาพบว่าเชื้อในกลุ่ม MRSA มีลักษณะการดื้อยาแบบผสม (heteroresistance) คือมีการผสมของแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อยาปนอยู่กับกลุ่มที่ไวต่อยา ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อที่มียีนส์ดื้อต่อยานั้น มีเพียงส่วนน้อยที่สามารถแสดงออกถึงคุณสมบัติการดื้อยา (ประมาณ10^{-3} ถึง 10^{-7}) อุณหภูมิและชนิดของอาหารเพาะเชื้อมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะการดื้อยา โดยทั่วไปเชื้อที่ดื้อยามีอัตราการเจริญที่ช้ากว่าเชื้อที่ไวต่อยา จึงอาจไม่เห็นลักษณะการดื้อยาหากอบเชื้อในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมงดังนั้นการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสมอาจตรวจไม่พบเชื้อดื้อยา การตรวจที่มีความไวสูงกว่าการทดสอบความไวต่อยาคือการใช้เทคนิคระดับโมเลกุล เช่นการตรวจหายีนส์ *mec A* ซึ่งทำหน้าที่สร้าง PBP2a ด้วยวิธี PCR (Polymerasw Chain Reaction เทคนิคการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ) การตรวจดังกล่าวมีความสำคัญในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมในการรักษา โดยเฉพาะในผู้ที่มีการติดเชื้อรุนแรง ยาที่ถือเป็น drug of choice ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA คือกลุ่ม glycopeptides เช่น vancomycin อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีรายงานการพบเชื้อ *S. aureus* ที่ลดความไวต่อยาในกลุ่ม glycopeptides ที่เรียกว่า glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) รวมถึงพบการดื้อยาได้ในเชื้อกลุ่ม coagulase-negative staphylococci กลไกการดื้อยากลุ่ม glycopeptides ในเชื้อกลุ่ม *Staphyloccus* นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การเพิ่มขึ้นอย่างเป็นของอุบัติการณ์ของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะมีปัจจัยมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางด้านการเกษตรและปศุสัตว์ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตามคลินิก การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้มียีนส์ส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น อาจปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อยจำแนกเป็น 4 ประเภท

1. การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์

แบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ ซึ่งพบเป็นกลไกหลักที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในกลไกการดื้อยา ยาที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิกเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactams จากการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มดังกล่าวพบแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ β-lactamase ที่สามารถย่อยสลายส่วนวง

แหวน β-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ Penicilloic acid และ Crphalosporoic acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ

2. การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ใช้ในการสร้างเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา ทำให้ยาไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะนั้นๆ เช่น การดื้อยากลุ่ม β-lactams ของเชื้อ MRSA โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBP ที่ยาจะไปจับไปเป็น PBP2a ซึ่งจับกับยาได้ต่ำ ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการได้รับยีนส์ *mecA* และการสร้างผนังเซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-containing pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบนยีนส์ที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อจึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones

3.การลดการผ่านของสารเข้าเซลล์

ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยจำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นของยาในบริเวณเป้าหมายสูงพอที่จะออกฤทธิ์และมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นการขัดขวางไม่ให้ยาจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ย่อมทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ จากกลไกการดื้อยาดังกล่าว พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ เชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ Porins ซึ่งเป็นโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่นำสารเข้าเซลล์ เชื้อแบคทีเรียจะลดจำนวน Porins ลงเพื่อลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น

4.การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา

ยาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าวเพื่อแข่งกับปริมาณยา สามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อดำเนินการเมทาบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic Acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยากลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนจะถูกขัดขวางแต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์

Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม Dihydrofolate Reductase มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยา Trimethoprim ได้

จากกลไกการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า เชื้อแต่ละชนิดมีวิธีการดื้อยาชนิดเดียวกันในกลไกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและยีนส์ที่บงการการดื้อยาว่าเป็นยีนส์บนโครโมโซมหรือพลาสมิด (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

เชื้อ Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA)

S. aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนไม่มียาต้านจุลชีพพบมีอัตราการตายจากเชื้อ *S. aureus* สูงถึงร้อยละ 90 นักวิทยาศาสตร์จึงคิดค้นยาต้านจุลชีพเพื่อลดอัตราการตาย พบว่าปี ค.ศ.1940 ยา Penicillin G ถูกนำมาใช้ในการรักษาและสามารถลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้มาก แต่ในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบการดื้อยา Penicillin G จนกระทั่งปี ค.ศ.1948 พบว่ายา Penicillin G ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ.1959 ยา Methicillin เป็นยาที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin G แต่ต่อมาในปี ค.ศ.1961 เริ่มมีรายงานการพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin (MRSA) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น Tetracyclines, Sulfonamides, Macrolides, Cephalosporines, Chloramphenicol และ Quinolones เป็นต้น เชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า MSSA ความรุนแรงของเชื้อ MRSAและ MSSA ไม่ต่างกันแต่การติดเชื้อ MRSA มีความสำคัญมากกว่า เพราะเชื้อ MRSA ไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *Staphylococcus* ทั่วไป และหากเชื้อ MRSA แพร่กระจายทำให้เกิดการระบาดขึ้นในโรงพยาบาล จะส่งผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยและโรงพยาบาล

เชื้อ MRSA ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม β-lactams อื่นๆซึ่งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม β-lactams ต่อเชื้อจะทำโดยยาจะเข้าจับกับเอนไซม์ที่เรียกว่า PBP ในเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และCarboxypeptidation ซึ่งสำคัญสำหรับ Cross Linking ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดย β-lactam ออกฤทธิ์ทำให้ PBP ทำงานไม่ได้จึงเกิดการแตกสลายของชั้น Peptidoglycan ส่งผลให้เชื้อตาย เชื้อ *S. aureus* ที่ไวต่อ Methicillin (MSSA) สร้าง PBP 4 ชนิด คือ PBP1, PBP2, PBP3 และ PBP4 ซึ่ง PBP1, PBP2 และ PBP3 เป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับ β-lactam แต่ MRSA สร้าง PBP ที่ผิดปกติ เรียกว่า PBP2a ซึ่งจับกับ β-lactam ได้ไม่ดี เนื่องจากมี Affinity ต่ำจึงมีผลทำให้ PBP2a ในเชื้อดื้อยาทำหน้าที่แทน PBP ปกติ จึงทำให้ β-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ซึ่งยีนส์ที่ควบคุมการสร้าง PBP2a คือ *mecA* ส่วนการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides ไม่แตกต่างจากการดื้อยากลุ่มอื่น คือมีการ

เปลี่ยนแปลงเป้าหมายการลดการนำยาเข้าสู่เป้าหมายซึ่งอาจเป็นการลดการซึมผ่านหรือการขับยาออกจากเซลล์และทำให้ยาหมดฤทธิ์ (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

การแบ่งประเภทตามกลไกการดื้อยาของเชื้อ MRSA

1. True Methicillin-Resistant *S. aureus* (“True” MRSA)

ใน “True” MRSA พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Nafcillin รวมทั้งดื้อต่อยากลุ่ม Macrolide และ Chloramphencal ด้วย สำหรับในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ “True” MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105 สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ “True” MRSA จำนวน 72 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ69 เชื้อ “True” MRSA ดื้อยาโดยการสร้างPBP2a จากยีนส์ *mecA*

2. BorderlineOxacillin-Resistant *S. aureus* (BORSA)

การดื้อยาของเชื้อ BORSA มีลักษณะที่แสดงออกแบบ Non-heterogeneous มีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 μg ต่อml แต่ต่อมาภายหลังพบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา Oxicillin เพิ่มขึ้นโดยมีระดับค่าMIC อยู่ระหว่าง 2-8 μg ต่อml สายพันธุ์ Borderline Resistant แตกต่างจาก MRSA สายพันธุ์ “True” MRSA เนื่องจากสายพันธุ์ Borderline Resistant ไม่ดื้อต่อยาข้ามกลุ่ม ในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ BORSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ BORSA จำนวน 11 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10 อีกทั้งได้ทดสอบความไวของยา Amoxillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam, Chloramphenicol และ Erythomycin ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase โดยวิธี Agar Dilution พบว่า BORSA ไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin ทุกสายพันธุ์ ส่วน Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 82 เชื้อ BORSA มีกลไกการดื้อยาโดยเชื้อสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase มากเกินไป (Hyperproducing β-lactamase) ดังนั้น เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายบางส่วนของยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin และ Cephalosporins ได้ แต่เชื้อสายพันธุ์ BORSA กลับมาไวต่อยากลุ่ม β-lactam ได้อีกเมื่อนำมาทดสอบร่วมกับสารยับยั้งเอนไซม์ β-lactamase เช่น Clavulanic Acid และ Sulbactam เป็นต้น

3. Modified-Resistant *S. aureus* (MODSA)

MODSA จัดอยู่ในกลุ่ม Borderline Resistant เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มียีนส์ *mecA* เกิดความบกพร่องและมีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนของ PBP อื่นที่ไม่ใช่ PBP2a ทำให้กลไกการดื้อยาต่างจากสายพันธุ์ BORSA จากความบกพร่องของยีนส์ *mecA* ส่งผลให้มีการสร้าง

PBP4 เพิ่มขึ้นร่วมกับการมี PBP1 และ PBP2 ลดลง บางสายพันธุ์มีการกลายพันธุ์ของ PBP2a กลไกเหล่านี้ทำให้การจับของ β-lactam ต่อ PBP ลดลง จากการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 พบผู้ติดเชื้อสายพันธุ์ MODSA จำนวน 22 สิ่งส่งตรวจ คิดเป็นร้อยละ 21 เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin พบว่า MODSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว และไวต่อยา Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 72 และมีระดับค่า MIC ของยา Oxacillim เท่ากับ 64 μg ต่อ ml

4. Methicillin-Aminoglycoside-Resistant *S. aureus* (MARSA)

MARSA จัดเป็นเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถดื้อต่อยา Methicillin และ Aminoglycoside เชื้อดังกล่าวมีพัฒนาการการดื้อยาสูงกว่า MRSA เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ MARSA สามารถผลิตเอนไซม์ Aminoglycoside-modifying ชนิด Bifunctional Enzyme ประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Aminoglycoside 6'-N-Acetyltransferase (AAC(6')) และ Aminoglycoside 2''-Phosphotransferase (APH(2'')) เอนไซม์ดังกล่าวมีผลไปเร่งปฏิกิริยา N-acetylation และ O-phosphorylation ตามลำดับ จากการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการดื้อยาในกลุ่ม Aminoglycoside โดยเฉพาะ Gentamycin และ Amikacin เป็นต้น (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

การรักษาและการป้องกัน

การรักษาผู้ป่วยในรายที่เกิดฝีหนองขึ้น ยาต้านเชื้อแบคทีเรียอาจไม่สามารถผ่านผนังของฝีเข้าสู่รอยโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการรักษาโรคติดเชื้อกลุ่ม *staphylococcus* ที่เป็นฝีหนองควรต้องเจาะระบายหนองและเนื้อเยื่อเน่าตายในตำแหน่งที่ติดเชื้อออก หรือทำการล้างทำความสะอาดแผลที่ติดเชื้อ ร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสม ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ *S. aureus* ส่วนหนึ่งเป็นผลจากเชื้อปัจจัยก่อโรคที่หลากหลาย การทดสอบในสัตว์ทดลองพบว่าสาร polysaccharide จากแคปซูลของเชื้อ *S. aureus* มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดี แต่ยังจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปสำหรับการใช้ในคน (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553. ; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. epidermidis*

S. epidermidis เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณผิวหนังของคน พบอุบัติการณ์การติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกาย เช่น สายสวนปัสสาวะ ลิ้นหัวใจเทียม การใช้เครื่องช่วยหายใจ การให้สารน้ำทางเลือด เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

การวินิจฉัยแยกเชื้อ *S. epidermidis*

เชื้อ *S. epidermidis* จะให้ผลไวต่อยาโนโวไบโอซิน มีวงใสๆขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 – 27 มิลลิเมตร และการทดสอบฟอสฟาเทส จะให้ผลบวก (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

2. ***Enterobacteriaceae***

แฟมิลี *Enterobacteriaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ วงศ์ใหญ่ที่สุด มีความสำคัญทางการแพทย์ ประกอบด้วย 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญทางการแพทย์และแยกจากสิ่งส่งตรวจได้บ่อย มีสมาชิกมากกว่า 30 สปีชีส์ ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารของเชื้อก่อโรคติดเชื้อในทุกระบบของร่างกาย รวมถึงเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล และอาจมีความรุนแรงจนทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต ได้แก่ *Citrobacter* spp. *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter* spp., *Escherichia* coli, *Hafnia alvei*, *Klebsiella* spp. *Morganella morganii*, *Pantoea agglomerans*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus* spp., *Providencia stuartii*, *Salmonella* all *serotypes*, *Serratia* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. กลุ่มสองที่พบตามสิ่งแวดล้อมและมีอุบัติการณ์การก่อโรคต่ำ ได้แก่ *udvicia aquatica*. *Buttiauxella* spp., *Cedecea* spp., *Erwinia* spp., *wisconsensis*, *Photorhabdus* spp., *Pragia fontium*, *Rahnella aquatilis*, *Tatumella pytseos*. *Trabulsiella guamensis*, *Yokenella regensburgei* การจำแนกชนิดเชื้อ ประกอบด้วยการใช้ลักษณะทางที่โนไทป์และจีโนไทป์ ห้องปฏิบัติการจุลวิทยาคลินิกจะจำแนกเชื้อตามลักษณะทางฟีโนไทป์ โดยดูลักษณะโคโลนี การทดสอบทางชีวเคมี และการทดสอบทางน้ำเหลือง (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553, อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555)

ลักษณะทั่วไป

แบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* มีรูปร่างเป็นแกรมลบรูปแท่งตรง (gram - negative straight rod) ขนาด 0.3-1.0 x 10^{-6} ไมโครเมตร ไม่มีสปอร์ ไม่ติดสีทนกรด ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกเชื้อแบคทีเรียในวงศ์นี้ออกจากแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งกลุ่มอื่น ได้แก่

1. ไม่ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส ยกเว้นเชื้อ *Plesiomonas shigelloides*
2. ผลิตเอนไซม์คาทาเลส ยกเว้นเชื้อ *Shigella dysenteriae serotype*
3. สามารถหมักย่อยน้ำตาลดี-กลูโคสได้กรดหรือกรดและแก๊ส
4. รีดิวซ์ไนเทรตเป็นไนไทรต์ได้ ยกเว้นเชื้อ *Photorhabdus* และ *Xenorhabdus*

5. เชื้อส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยมีแฟลกเจลลาชนิดเพอริไทรคัส (peritrichous flagella) ยาว 1-5 ไมโครเมตร ยกเว้นเชื้อ *Klebsiella* และ *Shigella* ที่ ไม่เคลื่อนที่ เนื่องจากไม่มีแฟลกเจลลา และเชื้อ *Tatumella* ที่เคลื่อนที่ได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยมีแฟลกเจลลาที่ขั้วหรือด้านข้าง (polar, subpolar, lateral flagella)

6. เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปรวมทั้ง MacConkey agar ยกเว้น *Klebsiella granulosum*

7. เชื้อส่วนใหญ่มีฟิมเบรียหรือพิไล (fimbriae; pili)

8. ลักษณะทางจีโนไทป์พบว่า ค่าเบสกัวนีนบากไซโทซีน (guanine + cytosine) เท่ากับ 38-60 โมลเปอร์เซ็นต์ (mole %) ของดีเอ็นเอทั้งหมด

แบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae จัดเป็นเฟคัลเททีฟแอนแอโรบส์ คือ สามารถเจริญได้ในบรรยากาศที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 22-35 องศาเซลเซียส แต่มีเชื้อบางสกุลเจริญและแสดงปฏิกิริยาทางชีวเคมี ได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ได้แก่ *Yersinia*, *Hafna*, *Xenorhabdus torhabdus* และ *Erwinia* เชื้อสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อเกือบทุกชนิดที่มีในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาในเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ประมาณ) 1-5 มิลลิเมตร โคโลนีบน 5% sheep blood agar ค่อนข้างใหญ่และมีความคล้ายคลึงกัน คือ สีขาว-เทา นูน ทึบแสง เชื้อส่วนใหญ่ไม่สลายเม็ดเลือดแดง (ยกเว้น E. *coli* บางสายพันธ์ที่แสดงบีตา-ฮีโมไลซิส) ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกสกุลของเชื้อได้ อย่างไรก็ตาม มีเชื้อบางสกุลที่มีลักษณะโคโลนีจำเพาะ ได้แก่ *Klebsiella* มีโคโลนีขนาดใหญ่ เยิ้ม (mucoid) เมื่อใช้ลูปแตะโคโลนีแล้วแล้วยกขึ้น โคโลนีจะยืดตามลูปขึ้นคล้ายเส้นเชือก (string form) ส่วน Proteus จะมีโคโลนีแผ่ (swarm) เป็นรูปคลื่น และ *Yersinia* มีโคโลนีขนาดเล็กมากเท่าปลายเข็ม (pinpoint colony) (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553, อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555)

3. กลุ่มไพโอจินิกสเตรปโตค็อกไค (*pyogenic streptococci*)

เชื้อกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อที่ทำให้เกิดอาการอักเสบ มีไข้ และเป็นหนอง มีการสลายเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่เป็นแบบบีตา-ฮีโมไลซิส และสามารถจำแนกตาม Lancefield grouping ได้ เนื่องจากที่ผนังเซลล์จะมีคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยเชื้อหลายชนิด ได้แก่ *S. pyogenes* (group A B - hemolytic streptococci)

เชื้อ *Streptococcus pyogenes*

เชื้อ Streptococci ส่วนใหญ่ที่ประกอบด้วยแอนติเจนของ group A จะเป็น *S. pyogenes* ซึ่งเป็นเชื้อ ที่เก่าแก่ที่ก่อโรคในมนุษย์ เชื้อ *S. pyogenes* เป็นเชื้อก่อโรคหลักในมนุษย์ และทำให้เกิดการบุกรุกเฉพาะบริเวณหรือทั่วร่างกาย รวมทั้งทำให้เกิดความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อ

เชื้อจะมีรูปร่างกลมหรือรีและมีการเรียงตัวเป็นโซ่ การแบ่งตัวของเชื้ออาจแบ่งในแนวตั้งฉากกับแกนยาวของสายโซ่ ส่วนใหญ่ของสายโซ่อาจแตกออกเป็นลักษณะ diplococci ในบางครั้ง อาจเห็นเป็นลักษณะคล้ายท่อน ความยาวของสายจะแตกต่างกันและขึ้นกับสภาพแวดล้อม เชื้อ streptococci จะติดสีแกรมบวก อย่างไรก็ตาม ถ้าเชื้อมีอายุมากหรือเชื้อตายจะสูญเสียความสามารถในการติดสี แกรมบวกและอาจพบเป็นสีแกรมลบ ใน streptococci บางตัวสามารถเกิดการเปลี่ยนสีหลังจากบ่มข้ามคืน

การเพาะเลี้ยง

เชื้อ Streptococci สามารถเจริญในอาหารแข็งเห็นเป็นโคโลนีลักษณะคล้ายจานเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร เชื้อ *S. pyogenes* จะเกิด 8-hemolysis ส่วนในสปีชีส์อื่นจะให้รูปแบบของ hemolysis ที่แตกต่างกัน

ลักษณะการเจริญ

เชื้อจะมีการใช้กลูโคสเพื่อสร้างพลังงานและจะได้กรดแลคติคเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย การเจริญของ streptococci จะไม่ดีนักในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว แม้กระทั่งมีการส่งเสริมการเจริญในเลือดหรือ ในสารที่ได้จากเนื้อเยื่อก็ตาม ความต้องการสารอาหารของเชื้อจะแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ โดยเฉพาะ เชื้อที่ก่อโรคในมนุษย์มักจะต้องการปัจจัยที่ใช้ในการเจริญจำนวนมาก การเจริญและการเกิด hemolysis จะเกิดได้ดีถ้าบ่มในสภาวะที่มี CO, 10% เชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิด hemolysis จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ streptococci จะเป็น facultative anaerobe สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะ aerobe และ anaerobe ได้ ยกเว้น peptostreptococci ที่จัดเป็น obligate anaerobe

ความหลากหลายของเชื้อ

ความหลากหลายของเชื้อสามารถเห็นได้จากความแตกต่างของลักษณะโคโลนีของเชื้อ ซึ่งส่วนใหญ่มักพบในสายพันธุ์ของ *S. pyogenes* โดยจะพบลักษณะโคโลนี 2 ลักษณะ คือ โคโลนีที่มีลักษณะ เป็นผิวด้านหรือโคโลนีที่มีลักษณะเป็นมันวาว โคโลนีที่เห็นลักษณะเป็นผิวด้านเกิดจากเชื้อที่สร้าง M protein จำนวนมากและมักจะเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง ส่วนโคโลนีของ *S. pyogenes* ที่เป็นมันวาว เกิดจากเชื้อที่สร้าง M protein จำนวนน้อย และมักจะไม่รุนแรง

การก่อโรคของเชื้อ *S. pyogenes*

1. โรคคออักเสบ (pharyngitis หรือ streptococcal sore throat) เชื้อ *S. pyogenes* เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคคออักเสบเป็นอันดับหนึ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบบ่อยในเด็กอายุ 5-15 ปี ในคนปกติจะพบเชื้อนี้อาศัยอยู่ในลำคอประมาณ ร้อยละ 15-20 โดยไม่ก่อให้เกิดโรค โรคคออักเสบจะมีอาการเจ็บคอ ต่อมทอนซิลบวมโตมีสีแดง อาจมีหนอง เป็นไข้ ไอ ปวดศีรษะ ต่อมน้ำเหลืองใต้คางโต บางครั้งอาจลุกลามถึง หูชั้นกลาง ทำให้เกิดหูชั้นกลางอักเสบ (otitis media) และเกิดโรคปอดบวมได้

2. กลุ่มอาการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง (pyodermal infection) ได้แก่ ผิวหนัง อักเสบ (impetigo) ไฟลามทุ่ง (erysipelas) เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis)

2.1 ผิวหนังอักเสบ (impetigo) เป็นการติดเชื้อ *S. pyogenes* ที่บริเวณผิวหนัง พบในเด็กอายุ 2-5 ปี การติดเชื้อมักเริ่มจากมีตุ่มน้ำเล็กๆ ที่ผิวหนัง แล้วจะแตก ออกเป็นตุ่มหนอง มักเกิดขึ้นบริเวณหน้า แขนและขา

2.2 ไฟลามทุ่ง (erysipelas) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดบริเวณชั้นผิวหนังและเนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous tissue) จะมีอาการไข้ ปวดศีรษะ หนาวสั่น อาเจียน ที่บริเวณผิวหนังจะอักเสบบวมแดงแล้วลุกลามอย่างรวดเร็ว มักพบภายหลังจากการเป็นโรคคอ อักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. pyogenes* (streptococcal sore throat)

2.3 เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) เป็นการติดเชื้อลึกลงใต้ชั้นผิวหนัง เมื่อมีบาดแผล ทำให้ผิวหนังบวมแดง และมีการลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองอย่างรวดเร็ว ทำให้มีอาการไข้

3. ไข้ดำแดง (Scarlet fever) เกิดจากเชื้อ *S. pyogenes* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการผื่นขึ้นเฉียบพลัน เป็นปื้นแดง เริ่มจากทรวงอก คอ แขน ขา บางรายอาจพบจุดเลือดออก (petechiae) ในคนผิวคล้ำอาจพบ ลักษณะขรุขระคล้ายกระดาษทราย (sandpaper) ไม่พบขึ้นแดง รอบปากจะมีสีขาว ผู้ป่วยมัก เจ็บคอและคอแดงร่วมด้วย

4. กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษของเชื้อสเตรปโตค็อกคัส (streptococcal toxic shock syndrome: STSS) เกิดจากการติดเชื้อ *S. pyogenes* สายพันธุ์ที่สร้างสเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการคล้ายกับกลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ ของเชื้อ *S. aureus* (toxic shock syndrome: TSS) โดยจะมีอาการเป็นผื่นแดง ระบบหายใจ ล้มเหลว อุจจาระร่วง ช็อก และอาจเสียชีวิตได้

5. ภาวะไข้หลังคลอด (puerperal sepsis) เกิดจากการติดเชื้อที่กล้ามเนื้อมดลูก (endometrium) ในระหว่างคลอด ทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่กระแสเลือด

6. อาการแทรกซ้อนภายหลังการติดเชื้อ *S. pyogenes* (post streptococcal sequelae) จะทำให้เกิดอาการแทรกซ้อน 2 โรค ได้แก่ ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน (acute rheumatic fever) และกรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis)

6.1 ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน จัดเป็นโรคออโตอิมมูน (autoimmune disease) เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบ มีสาเหตุจากการติดเชื้อ *S. pyogenes* มักพบในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องหรือผู้ป่วยที่เป็นโรคคออักเสบชนิดเรื้อรัง กลไกการเกิดโรคเนื่องจากร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนเอ็มของเชื้อ ซึ่งแอนติบอดีนี้ จะทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reaction) กับเนื้อเยื่อหัวใจ โดยเฉพาะลิ้นหัวใจ เกิดการ ทำลายเนื้อเยื่อหัวใจ ทำให้มีอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ลิ้นหัวใจอักเสบ ข้ออักเสบหลายข้อ โดยเฉพาะข้อใหญ่ๆ ได้แก่ ข้อเข่า ข้อเท้า ข้อศอก และมีผื่นแดงตามตัว แขน ขา ผู้ป่วยที่ เป็นโรคนี้จะมีความแรงหรือไตเตอร์ของแอนติบอดีต่อสเตรปโตไลซินโอ (antistreptolysin 0. ASO titer) ในระดับสูง ใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการวินิจฉัยโรคไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลันได้

6.2 กรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบหรือโรคพุพองตามผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. pyogenes* สายพันธุ์เนไฟรโทจินิก (nephritogenic strain) มีกลไกการเกิดโรคคือ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน ที่เป็นตัวเชื้อและแอนติบอดี (antigen-antibody; Ag-Ab Complex) จะไปเกาะบริเวณ โกลเมรูไล (glomeruli) ของไต ซึ่ง Ag- Ab complex จะไปกระตุ้นคอมพลีเมนต์ ทำให้เกิด การอักเสบของกรวยไต ไตบวม ไตทำงานผิดปกติ ความดันโลหิตสูง มีเลือดและโปรตีนใน ปัสสาวะ (hematuria and proteinuria) (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553, อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555)

4. *Pseudomonas*

Pseudomonas จัดอยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง ขนาดปริมาณ 0.5-1 x 1.5-5.0 ไมโครเมตร จำแนกเชื้อเป็น 6 กลุ่มโดยอาศัย ความเหมือนของลำดับเบส (DNA homology) ของยีน 16S rDNA ได้แก่ *P. aeruginosa* group, i *stutzeri* group, *P. putida* group, *P. fluorescens* group, *P. chlororaphis* group และ *P. syringae* group หรือจำแนกเชื้อเป็น 2 กลุ่มตามความสามารถในการผลิตรงควัตถุเรื่องแสง ได้แก่ กลุ่มที่สามารถผลิตรงควัตถุเรืองแสงชนิดไพโอเวอร์ดิน (pyoverdin) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้และเรืองแสงเขียวแกมเหลือง (water-soluble, yellow-green fluorescent pigment) เมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ขนาดความยาว 400

นาโนเมตรได้แก่ *P. fluorescens*, *Paeruginosa* และ *P putida* และกลุ่มที่ไม่สามารถผลิตรงควัตถุเรืองแสงชนิดไพโอเวอร์ดิน ได้แก่ *P. Stutzeri*, *Palcaligenes* และสปีชีส์อื่น

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส เคลื่อนที่ได้โดยมีแฟลกเจลลาชนิด *P. aeruginosa* โมโนไทรคัส บางสายพันธุ์สร้างชั้นเมือกอยู่ภายนอกเซลล์มีลักษณะคล้ายแคปซูล เรียกว่า surface slime เชื้อสร้างพลังงานโดยผ่านกระบวนการออกซิเดชันและเจริญเติบโตได้ช้าในสภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน โดยใช้ไนเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแทนแก๊สออกซิเจน เชื้อสามารถมีชีวิตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะแวดล้อมที่มีสารอาหารเพียงเล็กน้อย ในช่วงอุณหภูมิ 20-40 อาศาเซลเซียส จึงพบเชื้อได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติและในโรงพยาบาล

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส เป็นสาเหตุสำคัญอันดับหนึ่งของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล แหล่งของเชื้ออาจมาจากสิ่งแวดล้อมภายในโรงพยาบาล น้ำยาและอุปกรณ์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะบริเวณที่มีความชื้น เช่น อ่างล้างมือ น้ำกลั่น น้ำเกลือที่ใช้ทำความสะอาดแผล สบู่เหลว ยาหยอดตา รวมถึงน้ำยาฆ่าเชื้อบางชนิด หรือจากผู้ป่วยคนอื่น

สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง

ไพล (สำนักงานข้อมูลสมุนไพรคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2559)

ข้อมูลทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber cassumunar* Roxb.

วงศ์ Zingiberaceae

ชื่ออื่น ปูลอย ปูเลย ว่านปอบ ว่านไฟ, Bengal ginger, vanaardraka, banada

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ล้มลุกอายุหลายปี เหง้าอวบหนาผิวนอกสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีเหลืองอมสีส้มมีกลิ่นเฉพาะ กาบใบเรียงสลับโอบกันแน่นชูเหนือดินเป็นลำต้นเทียม สูง 1.2 - 1.8 เมตร แตกกอ กาบใบเกลี้ยงหรือมีขนตามขอบ *ใบ* เป็นใบเดี่ยวเรียงสลับระนาบเดียว รูปแถบ กว้าง 2 – 4 เซนติเมตร ยาว 20 - 35 เซนติเมตร ปลายเรียวยาว โคนสอบ ผิวใบด้านล่างมีขนนุ่ม ก้านใบยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร ลิ้นใบเป็นสองแฉกตื้นยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร มีขน *ช่อดอก* แบบช่อเชิงลดออกจากเหง้า ก้านช่อตั้งตรงขึ้นเหนือดินยาว 20 – 25 เซนติเมตร รูปกระสวยถึงรูปไข่กว้าง 3 - 4

เซนติเมตร ยาว 10 - 15 เซนติเมตร ใบประดับเรียงซ้อนกันแน่น สีน้ำตาลขอบสีเขียวอ่อน รูปไข่ ยาว 3 - 3.5 เซนติเมตร ผิวมีขนนุ่มปลายแหลม ใบประดับย่อยยาว 1 - 1.5เซนติเมตร กลีบเลี้ยงโคนติดกันเป็นหลอด สีขาวยาวประมาณ 1.2 เซนติเมตร กลีบดอกสีเหลืองอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร ปลายแยกเป็นสามแฉก เกสรเพศผู้เป็นหมันที่เปลี่ยนไปเป็นกลีบปากยาว ประมาณ 6 เซนติเมตร รูปเกือบกลม สีขาว ปลายแยกเป็น 2 แฉก และจะแยกออกลึกขึ้นเมื่อดอกใกล้โรยเกสรเพศผู้เป็นหมันที่เหลือรูปขอบขนาน สีเดียวกับกลีบปาก ขนาบสองข้างของโคนกลีบปากและเชื่อมเป็นแผ่นเดียวกัน เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์มี 1 อัน ก้านเกสรเพศผู้สั้นมาก อับเรณูเป็นหงอนยาวและโค้งหุ้มก้านยอดเกสรเพศเมีย ที่ยาวขึ้นไปเหนืออับเรณู รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ ยาวประมาณ 2มิลลิเมตร มี 3 ช่อง แต่ละช่องมีออวุลจำนวนมาก *ผล* แบบผลแห้งแตก รูปกลม

ส่วนที่ใช้เป็นยา

เหง้าแก่จัด

สรรพคุณและรสยาไทย

ไพลมีรสฝาดขื่นเอียน สรรพคุณขับลม ขับระดู แก้ลำไส้อักเสบขับเลือดร้าย แก้ระดูขาว เป็นต้น ใช้ภายนอกโดยการทาถูนวดแก้เคล็ดขัดยอก สมานแผล แก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ

สารสำคัญที่ออกฤทธิ์

สารออกฤทธิ์ต้านการอักเสบในไพล ได้แก่ curcumin น้ำมันหอมระเหย และสารอื่นๆ เช่น (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene (DMPBD) ส่วนสาร cassumunarins สาร (E)-4 (3',4'-dimethylphenyl) but-3-en-l-ol มีฤทธิ์แก้ปวด

การใช้ไพลรักษาอาการบวม ฟกช้ำ อักเสบตามคำแนะนำของกระทรวงสาธารณสุข

ใช้เหง้าประมาณ 1 เหง้า ตำแล้วคั้นเอาน้ำ ทาถูนวดบริเวณที่มีอาการ ตำให้ละเอียดผสมเกลือเล็กน้อย คลุกเคล้าแล้วนำมาห่อเป็นลูกประคบอังไอน้ำให้ความร้อน ประคบบริเวณปวดเมื่อยและฟกช้ำ เช้าและเย็น

หมายเหตุ : ครีมน้ำมันไพลขององค์การเภสัชกรรม เตรียมจากน้ำมันซึ่งกลั่นจากหัวไพล สาระสำคัญจะเป็นน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน ได้จากการสกัดน้ำมันที่พืชสมุนไพรสร้างขึ้นโดยเก็บไว้ในส่วนต่างๆของพืชสมุนไพร เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น หรือที่รากและเหง้า ระดับของน้ำมันหอมระเหยที่พบในพืชแต่ละชนิดจะมีตั้งแต่ 0.01% ถึง 10% ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีกว่า 100 ชนิด มีลักษณะทั่วไปเป็นของเหลว ใส

ไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด แต่นอกจากพืชหอมจะให้กลิ่นหอมแล้ว บางชนิดอาจก่อให้เกิดอันตรายได้ด้วย เช่น ทำให้เกิดการระคายเคืองหรือเกิดอาการเป็นพิษ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ ,2553; สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545)การใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหยมีมาตั้งแต่สมัย 5000 ปีก่อน โดยใช้ในชุมชนมีอารยธรรมแต่โบราณ เช่น อิยิปต์ กรีก โรมัน และจีน จากหลักฐานใน Ebers Papyrus แสดงให้เห็นถึงการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆมาใช้เป็นเครื่องประทินกลิ่นกาย ใช้ถนอมอาหาร ใช้ในการเก็บรักษาร่างมัมมี่ ใช้กลิ่นบำบัดอาการทางร่างกายและปรุงแต่งอารมณ์หรือที่เรียกว่าสุคนธบำบัด (aromatherapy) หลังจากนั้นก็มีชนชาติอื่นนำมาใช้ ได้แก่ จีน อินเดีย อียิปต์ ฝรั่งเศส เป็นต้น กลิ่นหอมต่างๆที่นำมาบำบัดเป็นสารสกัดที่มาจากน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ ซึ่งมีสรรพคุณและประโยชน์มากมาย โดยทั่วไปน้ำมันหอมระเหยสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น การซึมผ่านผิวหนังและการรับประทาน แต่ละชนิดมีฤทธิ์ต่อระบบต่างๆของร่างกายที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับประเภทและสรรพคุณของพืชนั้นๆ และเมื่อนักเคมีชาวฝรั่งเศสชื่อ Renee Mourice Gattefose ประสบอุบัติเหตุไฟลวกมือแล้วใช้น้ำมันลาเวนเดอร์ทาและได้ผลดี จึงทำให้มีความสนใจถึงคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยกันอย่างกว้างขวาง (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ,2553; นิจศิริ เรืองรังสี, 2550)

การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชธรรมชาติมีหลายวิธีการ การเลือกวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะต้องพิจารณาลักษณะและปัจจัยต่างๆร่วมด้วย เช่น ส่วนของพืชที่นำมาสกัด คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการ วัตถุประสงค์ของการนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ เป็นต้น วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยแบ่งออกได้ ดังนี้

1. การกลั่น (Distillation) วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพราะเป็นวิธีที่ประหยัดและสามารถใช้แยกน้ำมันหอมระเหยได้เกือบทุกชนิด สิ่งที่สำคัญที่ต้องควบคุมในการกลั่น คือ ระยะเวลาและอุณหภูมิ เพราะจะส่งผลถึงคุณภาพและกลิ่นของน้ำมันที่ได้ การกลั่นแบ่งออกได้ 3 วิธี คือ

1.1 การกลั่นด้วยน้ำ (water distillation/hydro distillation) นิยมใช้กับพืชที่มีองค์ประกอบทางเคมีไม่สลายตัวเมื่อถูกความร้อน โดยการนำพืชที่ต้องการกลั่นมาใส่ในหม้อกลั่นแล้วเติมน้ำจนท่วมพืช ต้มจนน้ำเดือด เมื่อน้ำเดือดระเหยเป็นไอ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยที่

อยู่ในเนื้อเยื่อพืชออกมา เมื่อผ่านเครื่องควบแน่น ไอน้ำและไอของน้ำมันหอมระเหยจะควบแน่นเป็นของเหลว ได้เป็นน้ำและน้ำมันหอมระเหยแยกออกจากกัน ข้อเสียของวิธีนี้คือ ในกรณีที่ต้องกลั่นพืชปริมาณมากๆ ความร้อนที่ให้สู่หม้อกลั่นจะไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งหม้อกลั่น ก่อให้เกิดการไหม้หรือการสลายตัวองค์ประกอบบางชนิดทำให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยเปลี่ยนไป หรืออาจมีกลิ่นของภาชนะติดมาด้วย สำหรับการกลั่นพืชปริมาณน้อยๆในห้องปฏิบัติการ เราสามารถทำได้โดยใช้ชุดกลั่นที่ทำจากเครื่องแก้ว เรียกว่า ชุดกลั่นชนิด Clevenger

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) นิยมใช้กับพืชที่มีองค์ประกอบทางเคมีสลายตัวเมื่อถูกความร้อนโดยตรง ทำโดยนำพืชที่ต้องการกลั่นมาวางบนตะแกรงที่อยู่เหนือหม้อต้มน้ำ ให้ความร้อนจนน้ำเดือดกลายเป็นไอน้ำ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยแล้วควบแน่นกลับมาเป็นน้ำกับน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้ อาจเรียกว่า wet steam พืชที่ใช้กลั่นโดยวิธีนี้จะมีคุณภาพดีกว่าวิธีแรก

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ทำโดยการนำพืชที่ต้องการกลั่นมาวางบนตะแกรงที่อยู่เหนือหม้อกลั่นให้ผ่านความร้อนจากไอน้ำ ไอน้ำจะเป็นตัวพาน้ำมันหอมระเหยในพืชระเหยออกมาอย่างรวดเร็ว ข้อดีของวิธีนี้คือ ใช้เวลากลั่นสั้นและน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีคุณภาพและปริมาณสูงกว่าสองวิธีแรก พืชที่ไม่เหมาะสมในการกลั่นด้วยวิธีนี้คือ ส่วนของพืชที่มีลักษณะบาง เช่น กลีบกุหลาบ ควรใช้วิธีการสกัดโดยใช้ไขมันจะเหมาะสมกว่า

2. การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction) วิธีนี้จะทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีนหรือเฮกเซน ซึ่งจะสกัดสารหอมจากพืชออกมา ซึ่งจะมีไข สารสีและแอลบูมินออกมาด้วย นำสารที่สกัดได้ไประเหยไล่ตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำภายใต้ระบบสุญญากาศจะได้ส่วนที่เรียกว่า concrete เราสามารถนำ concrete ไปใช้ในการแต่งกลิ่นสบู่ได้ แต่ไม่นิยมใช้ในน้ำหอมเพราะยังไม่บริสุทธิ์เพียงพอ วิธีนี้ไม่นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหาร เนื่องจากยังมีสารละลายที่เป็นพิษตกค้างอยู่

3. การบีบหรือการบีบเย็น (Expression/Cold expression) วิธีนี้มักใช้กับพืชตระกูลส้ม เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด ส้มโอ โดยการบีบเปลือกของผลไม้ทำให้เซลล์ของพืชแตกออกแล้วปล่อยน้ำมันออกมา เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีนี้ไม่ใช้ความร้อนจึงทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีกลิ่นใกล้เคียงกับพืชสด แต่มีข้อเสียคือ น้ำมันที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่บริสุทธิ์

3.1 Expression เป็นการบีบโดยใช้แรงอัด ทำให้น้ำมันและน้ำในเซลล์ไหลออกมา ซึ่งอาจจะอยู่ในรูป emulsion และสามารถแยกออกจากกันได้โดยการปั่นด้วยความเร็วสูง ทำให้น้ำกับน้ำมันแยกชั้นกันได้

3.2 Acuelle เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลของพวกส้ม ทำได้โดยให้ผลของพวกส้มกลิ้งไปบนภาชนะที่มีเข็มแหลมๆ จำนวนมากอยู่ เข็มจะแทงต่อมน้ำมัน ทำให้ต่อมน้ำมันแตกออก น้ำมันจะไหลออกมารวมกันที่ราง ลงไปในภาชนะที่รองรับข้างล่าง

4. การสกัดโดยใช้ไขมัน (Enfleurage) วิธีนี้มักใช้กับดอกไม้กลีบบางจำพวกกุหลาบและดอกมะลิ เป็นวิธีที่ได้ความหอมคล้ายธรรมชาติมากที่สุด ทำได้โดยการนำดอกไม้มาวางทับถาดกระจกที่เกลี่ยด้วยไขมันสัตว์บางๆ (ส่วนใหญ่ใช้ไขมันหมู วัว หรือแกะ) เพื่อให้ไขมันดูดซับสารหอมจากดอกไม้ โดยใช้เวลาประมาณ 1-3 วัน กระบวนการนี้จะทำซ้ำๆกันจบกระทั่งไขมันดูดสารหอมอย่างเพียงพอ ไขมันที่ดูดสารหอมนี้เรียกว่า pomade นำ pomade ไปละลายในแอลกอฮอล์ จะได้น้ำมันหอมระเหยออกมา การผลิตน้ำมันหอมระเหยจะสกัดด้วยวิธีนี้มากกว่า 10%

5. การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (Super-critical carbon dioxide extraction) วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยแบบใหม่ โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของเหลวและแก๊ส ภายใต้ความดันและอุณหภูมิที่สูง ใช้ความดันประมาณ 200 atmที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีคุณภาพดีและบริสุทธิ์สูง แต่มีข้อเสียคือ เครื่องมือมีราคาแพงมาก มักมีสารอื่นติดมาด้วยทำให้ดูสกปรกสีเข้มดำคล้ำ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2553; นิจศิริ เรืองรังสี, 2550)

ระบบนำส่งยา (Drug delivery system)

ในสมัยแรกๆ มนุษย์เริ่มปรุงยาจากพืชสมุนไพรและแร่ธาตุที่มีอยู่ตามธรรมชาติ โดยใช้วิธีการต้มหรือสกัด เรียกยุคนั้นว่ายุค prepharmaceutical ต่อมาเมื่อวิทยาศาสตร์ก้าวหน้าจึงมีการเตรียมยาในต่างๆ เช่น ยาลูกกลอน ยาเม็ด ยาน้ำ แคปซูล ขี้ผึ้ง ครีม ยาพ่น ยาฉีด เป็นต้น เรียกว่า first generation ยารูปแบบธรรมดาเหล่านี้ ถ้าต้องการให้ระดับความเข้มข้นของยาอยู่ในระดับรักษาจำเป็นต้องให้หลายๆครั้งต่อวัน การให้ยาซ้ำตามขนาดเดิมต่อมา จะทำให้ระดับยาขึ้นๆลงๆ เป็นแบบฟันเลื่อย ลักษณะเช่นนี้ทำให้เสี่ยงต่อการที่ระดับยาอาจสูงมากจนอาจเกิดผลข้างเคียงหรือพิษของยาได้หรือระดับยาอาจต่ำจนไม่สามารถแสดงฤทธิ์ ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาเทคนิคและกรรมวิธีใหม่ๆจนสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาออกมาในอัตราเร็วตามที่ต้องการได้ เรียกว่ายุค second generation ส่วนในยุค third generation เป็นการคิดค้นรูปแบบยาที่ควบคุมการลดปล่อยยาได้อย่างเที่ยงตรงแม่นยำมากขึ้น (ประณีต โอปณะโสภิต และสุวรรณี พนมสุข,2554)

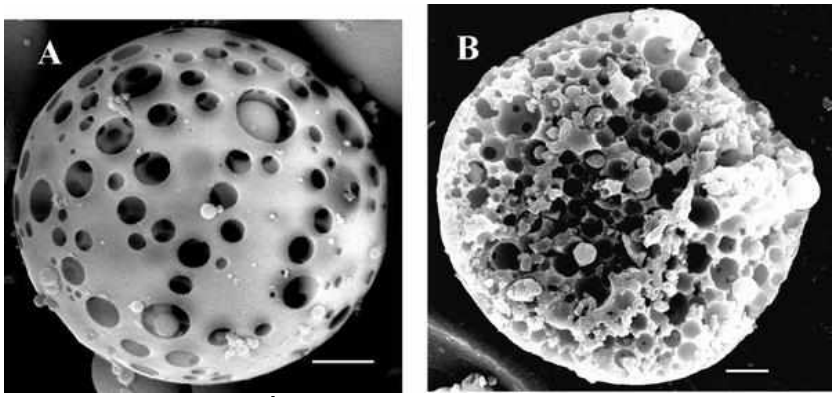
การนำส่งยาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล

การนำส่งยารูปแบบหนึ่งคือการนำส่งในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล (microparticle) โดยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน (microencapsulation) ไมโครเอนแคปซูเลชันหมายถึงกระบวนการผลิตไมโครพาร์ทิเคิล และไมโครพาร์ทิเคิลหมายถึงอนุภาคของแข็งขนาดไมครอนที่ห่อหุ้มตัวยาหรือสารสำคัญอยู่ภายในอนุภาคหรืออาจถูกดูดซับอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคโดยในราว ค.ศ.1950 บริษัท The National Cash Registerในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ริเริ่มผลิตกระดาษทำสำเนาที่ไม่ใช้คาร์บอนด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน โดยใช้gelatinเป็นสารก่อฟิล์มห่อหุ้มบรรจุสีย้อมที่ไม่มีสีแล้วนำไปติดด้านหลังของกระดาษแผ่นบน เมื่อกดปากกาลงบนกระดาษ ไมโครแคปซูลจะแตกออกปล่อยสีย้อมออกมาทำปฏิกิริยากับ acid clay ที่เคลือบกระดาษแผ่นล่างทำให้เกิดสีขึ้น จากความสำเร็จนี้นำไปสู่การพัฒนาเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั้นเพื่อประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่นทางด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรมอาหารที่นำมาใช้เพิ่มความคงตัวของสารแต่งกลิ่น รสและส่วนประกอบอื่นๆ ทางด้านเครื่องสำอางที่นำมาใช้เก็บกักน้ำหอมเพื่อยืดระยะเวลาการปลดปล่อยกลิ่นหอม เป็นต้น ส่วนทางด้านเภสัชกรรมและทางการแพทย์ เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมีศักยภาพในการนำมาพัฒนารูปแบบการนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพและเพิ่มความคงตัวของตัวยาสำคัญ ก่อให้เกิดการพัฒนาและการวิจัยอย่างกว้างขวาง จนในปี ค.ศ.1960 ได้พบว่าเทคนิคนี้สามารถนำส่งยาได้หลายประเภทรวมไปถึงโปรตีนและสารพันธุกรรม (วรี ติยะบุณชัย,2556)

เทคโนโลยีการห่อหุ้มสารสำคัญไว้ในอนุภาคนี้เริ่มต้นจากการเคลือบหรือห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคเคลือบผิวในหม้อเคลือบ แต่อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่มากกว่า 600 ไมครอน จึงยังไม่จัดว่าเป็นเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันที่แท้จริง แต่ในปี ค.ศ.1950 Southwest Research Institute ใน Texas ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้พัฒนา เครื่องมือ two-fluid gravity-flow เพื่อผลิตแคปซูลขนาดใหญ่ไร้รอยต่อ หลักการคือให้สารสำคัญไหลผ่านท่อด้านใน ส่วนสารก่อผนังแคปซูลผ่านท่อด้านนอก เมื่อสารไหลมาถึงปลายท่อที่มีรูเปิดเล็กๆจะหยดเป็นทรงกลม ทำให้สารสำคัญถูกห่อหุ้มไว้ภายในผนังแคปซูล ต่อมาในปี ค.ศ.1974 จึงสามารถพัฒนาเครื่องมือที่ผลิตไมโครแคปซูลขนาด 350 ไมครอนได้สำเร็จ หลังความสำเร็จทั้งหมด เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันได้มีการพัฒนาและศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องกันในวงกว้างจนถึงปัจจุบันนี้ บางเทคนิคได้ถูกพัฒนาขึ้นใหม่ บางเทคนิคได้รับการปรับปรุงต่อยอดจากเทคนิคดั้งเดิม นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาเครื่องมือใหม่ๆเพื่อใช้ในการผลิตอนุภาคของแข็งขนาดไมครอนอีกด้วย (วรี ติยะบุณชัย,2556)

ไมโครพาร์ทิเคิล สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

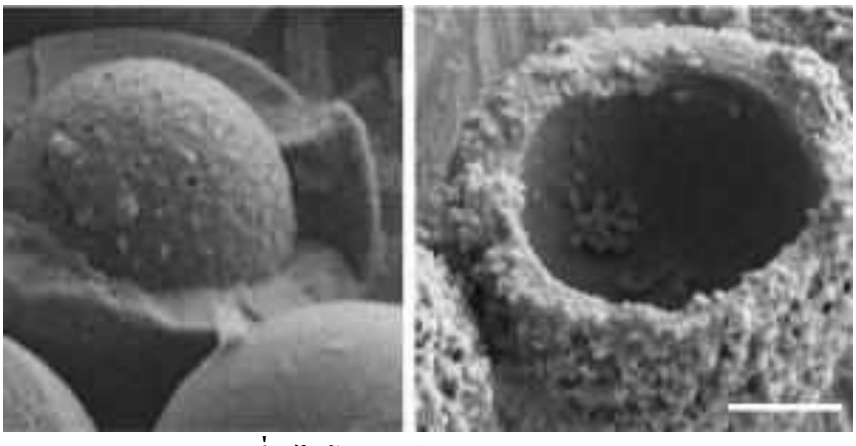
1. ไมโครสเฟียร์ (microsperes) คืออนุภาคซึ่งมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน และมีตัวยากระจายตัวอยู่ภายในหรืออาจดูดซับอยู่ที่พื้นผิว ไม่สามารถแยกเป็นส่วนผนังหรือส่วนแคปซูลได้อย่างชัดเจน ชื่ออื่นที่นิยมเรียก เช่น monolithic, matrix



ภาพที่ 2 ไมโครสเฟียร์ (Microsperes)

(ที่มา :http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2004/CC/b314465h/b314465h-f1.gif)

2. ไมโครแคปซูล (microcapsules) คืออนุภาคซึ่งมีลักษณะเป็นผนัง หรือแคปซูลที่ห่อหุ้มตัวยาอยู่ภายในหรือตัวยาอาจดูดซับอยู่ที่พื้นผิว มีชื่อพ้องคือ membrane, reservoir, capsule

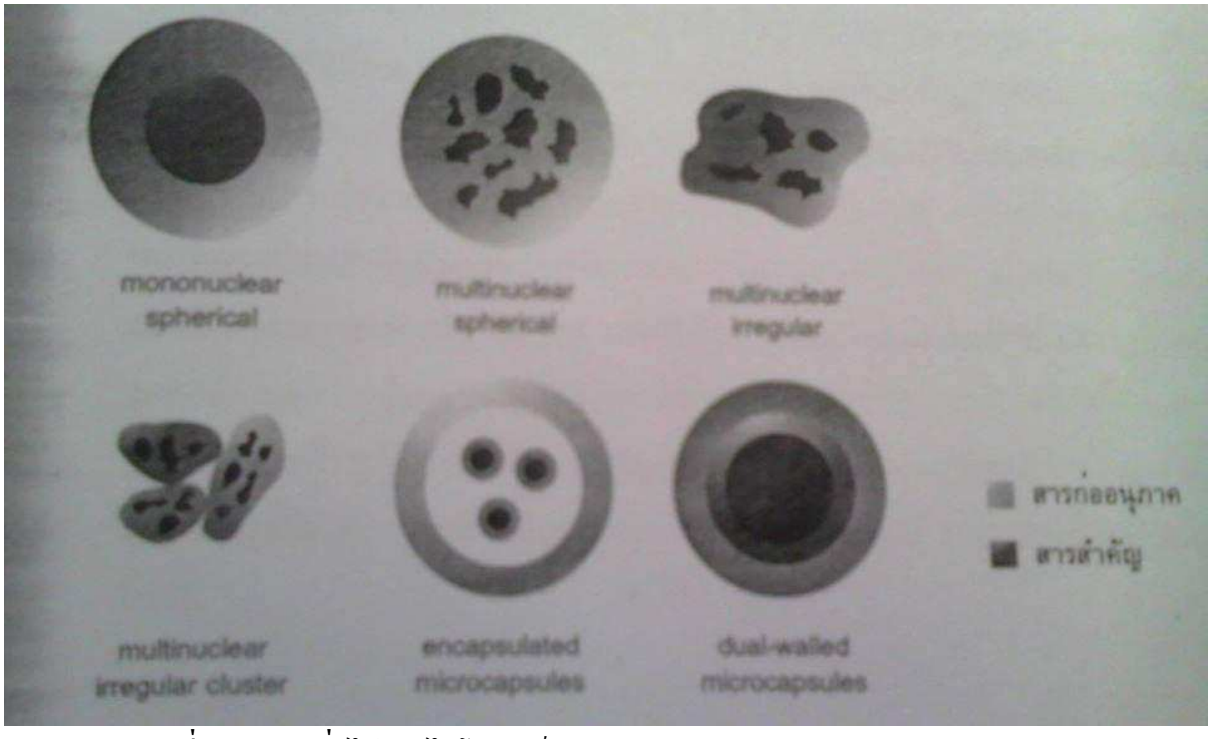


ภาพที่ 3 ไมโครแคปซูล (Microcapsules)

(ที่มา :http://www.orbisbio.com/img/core_shell_microparticles.png)

ไมโครพาร์ทิเคิลมีชื่อพ้องหลายชื่อ เช่น microcapsules, microspheres, spansules, coated granules, pellets, seeds และ microspherules แต่โดยทั่วไปไมโครพาร์ทิเคิลหมายถึงอนุภาคของแข็ง ขนาด 1-1000 ไมครอน เตรียมจากพอลิเมอร์หรือแว็กซ์ พบว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่จำหน่ายทั่วไป ขนาด 3-800 ไมครอน มีสารสำคัญร้อยละ 10-90 ส่วนระบบนำส่งยาที่อนุภาคเล็กกว่า 1 ไมครอน เรียกว่า นาโนพาร์ทิเคิล (nanoparticle) อนุภาคที่ใหญ่กว่า 1000 ไมครอน เรียกว่า แมกโครพาร์ทิเคิล (macroparticle)

ไมโครพาร์ทิเคิลมีรูปร่างได้หลากหลาย อาจเป็นทรงกลม (Spherical) หรือรูปร่างไม่แน่นอน (irregular shape) อาจบรรจุสารสำคัญแค่ 1 อนุภาค (mononuclear) หรือหลายอนุภาค (multinuclear) หากเป็นไมโครแคปซูลอาจมีผนังชั้นเดียวหรือหลายชั้นก็ได้ นอกจากนี้อาจพบลักษณะที่อนุภาคเกาะกลุ่มกันประมาณ 2-5 อนุภาค เรียกว่า cluster



ภาพที่ 4 ลักษณะทั่วไปของไมโครพาร์ทิเคิล ดัดแปลงจากวรี ติยะบุญชัย, 2556

ส่วนประกอบของไมโครพาร์ทิเคิล

1.สารสำคัญที่เก็บกักในอนุภาค (core materials)

2.สารก่ออนุภาค หรือสารก่อแคปซูล (coating materials)

3.ตัวทำละลาย

4.พลาสทิไซเซอร์

5.สารเติมแต่ง เช่น สารแต่งสี (coloring agents), สารลดแรงตึงผิว (surfactants), สารช่วยเพิ่มความคงตัว (stabilizing agants), สารเชื่อมโยงข้าม (cross-lonking agents)

สารสำคัญที่กักเก็บในอนุภาคหมายถึงส่วนที่เป็นตัวยาหรือสารสำคัญที่ต้องการเก็บกักไว้ภายในอนุภาค มีชื่อพ้องหลากหลายเช่น internal phase, fill, payload, active ingredient, และnucleus อาจเป็นได้ทั้งของแข็ง กึ่งแข็งกึ่งเหลว และของเหลว

สารก่ออนุภาคหรือสารก่อแคปซูล มีชื่อพ้องเช่น external phase, membrane, shell, wall และ coating agent โดยทั่วไปใช้พอลิเมอร์ทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้ดีและละลายน้ำได้น้อย และควรมีคุณสมบัติ คือ สังเคราะห์ได้ง่าย จำแนกคุณสมบัติได้ง่าย ราคาถูก เข้ากันได้ทางชีวภาพ เสื่อมได้ทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ ไม่เป็นพิษ และละลายน้ำได้ สารก่ออนุภาคแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์ธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์ พอลิเมอร์ธรรมชาติ (natural polymers) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ มีข้อดีคือ มีอยู่มากในธรรมชาติ ละลายน้ำได้ดี สามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกายและย่อยสลายได้ในร่างกาย ปลอดภัย ไม่เป็นพิษ แต่มีข้อเสียคือ มีความแปรผันของวัตถุดิบในแต่ละรุ่นของการผลิต และนิยมใช้สารกลุ่ม aldehyde ซึ่งเป็นสารที่มีพิษเพื่อทำให้อนุภาคแข็งแรงในระหว่างกระบวนการผลิต พอลิเมอร์ที่นำมาใช้คือโปรตีน เช่น collagen, albumin, gelatin และสารพวกพอลิแซคคาไรด์ เช่น chitosan, alginic acid, แป้ง, dextran, อะคาเซีย, และ hyaluronic acid ส่วนพอลิเมอร์สังเคราะห์ (synthetic polymers) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ จึงมีคุณภาพคงที่ทุกรุ่นและปรับปรุงคุณสมบัติได้ พอลิเมอร์สังเคราะห์บางตัวสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพและเสื่อมได้ทางชีวภาพ แต่มีข้อเสียคือพอลิเมอร์บางกลุ่มมีราคาแพง บางกลุ่มไม่สามารถเสื่อมได้ทางชีวภาพ พอลิเมอร์สังเคราะห์ที่นิยมใช้ ได้แก่ polyesters,polyphosphazenes, polyanhydrides, polyalkylcyanoacrylate, อนุพันธ์ของเซลลูโลส เป็นต้น

ตัวทำละลาย (solvents) ใช้เพื่อละลายสารก่ออนุภาคหรือพอลิเมอร์ ซึ่งตัวทำละลายจะทำลายแรงเชื่อมติดระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นผลึก จะมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมากกว่าพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นอสันฐาน จึงทำให้ละลายได้ยากกว่า ในตัวทำละลายที่ดีโมเลกุลของพอลิเมอร์จะยืดออกเพื่อทำปฏิกิริยากับตัวทำละลาย จึงเพิ่มแรงต้านในการไหล ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม ในตัวทำละลายที่ไม่ดีโมเลกุลของพอลิเมอร์จะขดเข้าหากันเพื่อให้มีส่วนสัมผัสกับตัวทำละลายน้อยที่สุด จึงทำให้มีความหนืดต่ำ การเลือกใช้ตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของพอลิเมอร์และตัวยาในตำรับ รวมไปถึงคำนึงถึงความปลอดภัยและต้นทุนในการผลิต จึงนิยมใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แต่พอลิเมอร์บางตัวไม่สามารถละลายน้ำได้ จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการผลิต ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นพิษต่อคนและสิ่งแวดล้อม จึงควรมีมาตรการควบคุมจัดการตัวทำละลายอินทรีย์

พลาสทิไซเซอร์ (plasticizer) มีคุณสมบัติเป็นสารที่ไม่ระเหยและมีจุดเดือดสูง นิยมเติมเพื่อเป็นสารก่อฟิล์ม (film former solution) และเพิ่มความยืดหยุ่น ลดความเปราะของสารก่อฟิล์ม ควรเลือกใช้พลาสติไซเซอร์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใกล้เคียงกับพอลิเมอร์ แบ่งเป็น 2 ชนิด

1. External plasticizer เช่น phthalate exters, fatty acid esters และ glycol derivative ช่วยลดแรงเชื่อมติดระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยการแทรกอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์

2. Internal plasticizer เช่น พอลิเมอร์ร่วมของอะคริลิกกับไวนิล (acrylic and cinyl copolymer) พลาสติไซเซอร์ชนิดนี้ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยปฏิกิริยาทางเคมี

สารเติมแต่งอื่นๆ (additives) ได้แก่ Channeling agent, Waxy sealants, และ cross-linking agent Channeling agent ใช้เพื่อเพิ่มการแพร่ผ่านของฟิล์มที่ไม่ชอบน้ำ เช่น เติม polyethylene glycol 400 ซึ่งละลายน้ำได้ลงในฟิล์มเอทิลเซลลูโลสเพื่อช่วยเพิ่มการแพร่ของยา เนื่องจากเพิ่มความเป็นรูพรุนของพอลิเมอร์เมทริกซ์(polymer matrix) Waxy sealants ใช้เพื่อลดการแพร่ผ่านของสารก่ออนุภาคที่ชอบน้ำ หรือเพื่อควบคุมอัตราการปลดปล่อยตัวยา สารตัวอย่างเช่น paraffin wax, carnauba wax, และ beeswax ส่วน Cross-linking agent ใช้เพื่อลดการแพร่ผ่านของสารก่ออนุภาคหรือเพื่อให้การปลดปล่อยตัวยาช้าลง ตัวอย่างเช่น อัลดีไฮด์ซึ่งใช้เทคนิคการแยกเฟสและเกลือแคลเซียมซึ่งใช้เทคนิคการก่อเกิดเจล

การเกาะกลุ่ม (Aggregation) เป็นปัญหาที่พบในกระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูล คือการที่ไมโครพาร์ทิเคิลมาเกาะกลุ่มรวมกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และไม่สามารถกลับไปเป็นอนุภาคเดี่ยวได้อีก จัดว่าไม่คงตัวในทางอุดมคติ ตำรับที่ดีอนุภาคควรกระจายตัวเป็นอนุภาคเดี่ยวอย่างสม่ำเสมอและไม่พบการเกาะกลุ่ม แต่ในทางปฏิบัติมักพบ 2 หรือ 3 อนุภาคมาเกาะรวมกันเป็น 1 อนุภาค เรียกว่า doublet หรือ triplet จัดว่ามีการเกาะกลุ่มต่ำ ถือเป็นตำรับที่ดี หากมีการเกาะกลุ่ม 5 – 10 อนุภาค ลักษณะคล้ายพวงองุ่น (graph cluster) จัดว่าพอใช้ การเกาะกลุ่มกันชนิดที่เป็นปัญหาใหญ่คือการที่อนุภาคเล็กๆหลายอนุภาคมารวมกันจนเสียรูปทรง หรือเกิดการรวมกันโดยเสียรูปทรงทำให้เกิดอนุภาค 1 ก้อนใหญ่ เรียกปรากฏการณ์ที่ไมโครพาร์ทิเคิลรวมกันเป็นก้อนเดียวนี้ว่า cheesing วิธีแก้ปัญหาที่นิยมคือการเติม cross-linking agents เพื่อทำให้ผนังแคปซูลแข็งแรงขึ้น ช่วยลดการเกาะกลุ่มได้ หรือเติมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ไปเคลือบรอบๆ อนุภาคไมโครพาร์ทิเคิล(protective colloids) นิยมใช้ทั้งพอลิเมอร์ที่มีประจุและไม่มีประจุ

ประโยชน์ของไมโครเอนแคปซูเลชัน

1.สามารถกลบกลิ่นและรสที่ไม่ดีของตัวยา โดยการเก็บกักไว้ในอนุภาค

2.สามารถแยกสารสำคัญที่เข้ากันไม่ได้ (incompatible materials)

3.สามารถเปลี่ยนรูปแบบของสารจากของเหลวให้อยู่ในรูปของแข็ง

4.ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารโดยป้องกันสารจากสภาพแวดล้อม

5.สามารถลดการระเหยของสารสำคัญได้ ในกรณีที่เป็นสารระเหยง่าย

6.สามารถทำให้ยาออกฤทธิ์เนิ่นนาน ทำให้ระดับยาหรือสารสำคัญคงที่

เทคนิคการทำไมโครเอนแคปซูเลชั่นโดยวิธี Melt dispersion technique

ด้วยเทคนิค melt dispersion เม็ด solid lipid microparticles เกิดได้จากอิมัลชั่นของน้ำมันกับน้ำ (O/W) และเกิดได้จากอิมัลชั่นของน้ำ,น้ำมัน,และน้ำ (W/O/W) โดยเกี่ยวข้องกับการชอบไขมัน (lipophilic) หรือการชอบน้ำ (hydrophilic) ของสารสำคัญแต่ละชนิด ในกรณีแรกสารที่ชอบไขมันจะละลายในไขมันหลอมเหลวในอิมัลชั่นซึ่งมาจากการรวมของน้ำกับน้ำมันที่มีสารลดแรงตึงผิว (surfactant)เข้าช่วยแล้วจึงทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการแข็งตัวของเม็ด particles ส่วนสารสำคัญที่ชอบน้ำจะถูกผสมลงในอิมัลชั่นไขมันหลอมเหลวที่เกิดจากน้ำกับน้ำมันรวมกัน แล้วนำไปไว้ด้านในของphase ชั้นนอกที่เป็นน้ำ จึงได้อิมัลชั่นแบบ W/O/W ออกมาและเมื่อทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องจะได้เม็ด Microparticles (Battaglia, L., *et al,* 2014)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยของ Pan, Y., *et al.* (2014) พวกเขาได้ใช้ Melt dispersion technique ในการทำเม็ดparticles จาก paraffin wax เพื่อเก็บกัก cellulose โดยเริ่มจากใส่น้ำและสาร surfactant ได้แก่ Span 60 และ Tween 40 ลงในขวด flask เขย่าด้วยเครื่อง magnetic stirrer จากนั้นใส่ paraffin wax ผสม microcrystalline cellulose ที่หลอม 70 องศาเซลเซียสใน water bath แล้วลงไปผสม เขย่าที่ 1000 rpm จนเกิดอิมัลชั่น แล้วจึงทำให้เย็นลงในน้ำเย็นหรือ ice bath พร้อมทั้งเขย่าไปด้วย สุดท้ายจึงเก็บเม็ด microparticles ที่ได้โดยใช้กระดาษกรอง No.2 กรองออกมาแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหรือ ethanol

จากงานวิจัยของ Baimark, Y. (2009a) เรื่องการศึกษาการเตรียม microspheres จาก methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(3-caprolactone) (MPEG-b-PCL) โดยไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารลดแรงตึงผิว ทำได้โดยนำ MPEG-b-PCL 0.5 กรัม ไปหลอมในกลีเซอรอล 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 800 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80 - 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30นาที ทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำเม็ดไมโครพาร์ทิเคิลทั้งหมดไปเขย่าในน้ำกลั่นเพื่อล้างกลีเซ

อรอล จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและทำ freeze dry เพื่อแยกเม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกจากน้ำ ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนเขย่าน้ำ จำนวน 5 ครั้ง จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

อีกงานวิจัยหนึ่งของ Baimark, Y. (2009b) คืองานวิจัยเรื่อง การทำ microspheres จาก methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(∈-caprolactone-co-D,L-lactide)(MPEG-b-PCLDLL) ทำได้โดยนำ MPEG-b-PCL ทำปฏิกิริยากับ methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(D,L-lactide) (MPEG-b-PDLL) ได้เป็น MPEG-b-PCLDLL แล้วจึงนำไปหลอมผสมกับน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 600 – 900 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง ทำ freeze dry จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

จากงานวิจัยของ Malinovic *et al.* (2010) เรื่องการศึกษาการทำ microencapsulation สารแต่งกลิ่นรสโดยใช้ carnauba wax มีวิธีการคือ นำ carnauba wax ไปหลอมรวมกับน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิว tween 20 : span 40 ในอัตรา 0.53 : 0.47 ใน water bath 95 องศาเซลเซียส เติม Ethyl vanillin (สารสังเคราะห์กลิ่นวานิลา) ลงไปปั่นด้วยเครื่องปั่นสองใบพัด 1200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำเย็น 2-5 องศาเซลเซียส ให้เม็ด particles แข็งตัว นำไปกรอง ล้างด้วยน้ำสะอาดก่อนทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

จากงานวิจัยของ Mallepally, R. R. (2009) เรื่องการศึกษาการเก็บกักสารและการควบคุมการปลดปล่อยสารโดยใช้ Hyperbranched Polyesters มีวิธีการคือ นำ Hyperbranched Polyesters Boltorn®H30 มาหลอมบน hot plate ที่ 85 องศาเซลเซียส แล้วนำ Linear Polyester dynacoll® 7380 มาผสม เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 900 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ต่อไปตั้งน้ำอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เติม poly (vinyl alcohol) เป็น emulsifier เติม Sodium dodecul sulfate และ Sodium lauryl ether sulfate เป็นสารลดแรงตึงผิว นำสารละลายที่ได้ผสมกับสารละลาย polyseters ที่ได้ในขั้นแรก ปั่นผสมกันด้วยเครื่อง Ultra turrax stirrer ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำเย็นให้ เม็ด particles แข็งตัว นำไปปั่นเหวี่ยง ล้างและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

Lertsatitthanakorn, P. *et al.* (2013) ได้ทดลองการทำเม็ด particles เพื่อเก็บกักน้ำมันตะไคร้หอม โดยเริ่มจากละลายน้ำมันตะไคร้หอมใน cetyl alcohol ที่ 65 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากัน 1 นาที เตรียมสารผสมที่จะใช้เป็น surfactants โดยใช้ Poloxamer 188 และ Sodium dodecyl sulfate ผสมในอัตรา 35:1 ละลายในน้ำแล้วหลอมที่ 65 องศาเซลเซียส นำสารผสมทั้งสองชนิดผสมรวมกันจนได้อิมัลชั่น ทำให้เย็นลงใน ice bath ที่ 4 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ 30 นาที จนได้เม็ด microparticles ของน้ำมันตะไคร้

จะเห็นได้ว่า วิธีการทำเม็ด Microparticles ด้วย melt dispersion method เป็นเทคนิคที่ไม่ต้องใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ซึ่งเป็นอันตรายหากมีการตกค้าง อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย จึงเหมาะสมอย่างที่ยิ่งที่จะใช้เทคนิคนี้ในการทำเม็ด microparticles

จากงานวิจัยของ Akinjogunla, O. J., *et al.* (2009) ได้ศึกษาเชื้อจากแผลของผู้ที่ประสบอุบัติเหตุทางรถยนต์โดยพบแบคทีเรียทั้งหมด 74 ชนิด โดยแยกเป็น *Staphylococcus aureus* (37.8%), *Pseudomonas aeruginosa* (27.0%), *Escherichia coli* (14.9%), *Streptococcus pyogenes* (12.2%) และ *Klebsiella pneumoniae* (8.11%) ด้วยเทคนิค Kirby Bauer disc diffusion

จากงานวิจัยของ. Kassam N. A., *et al.* (2017) ได้ศึกษาสเปกตรัมและแอนติบอดีของแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่มีการเติบโตในแผล (91.4%) แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่แยกได้ (62.3%) เป็นแท่งแกรมลบ พบ *Staphylococcus aureus* (16%), *Coliforms* และ *Enterococcus* spp. (12.5% แต่ละครั้ง) และ *Enterococcus* spp. (36.4%) พบได้มากที่สุดในแผลที่เป็นเบาหวาน ขณะที่ *Staphylococcus aureus* พบได้มากที่สุดจากแผลที่บาดเจ็บ (40.0%) และการติดเชื้อในศัลยกรรม (20.6%) ความต้านทานสูงมากต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้กันทั่วไปในโรงพยาบาล

จากงานวิจัยของ ดร. ยุทธนา สุดเจริญ (2554) ได้ศึกษาการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ ผู้ป่วยมะเร็งที่เข้ามารับการรักษาใน สถาบันมะเร็งแห่งชาติ *Enterbactericeae* โดยส่วนใหญ่ที่พบ คือ *Escherichia coli* และ *Klebseilla pneumoniae* คิดเป็นร้อยละ 18.34 (n = 237) และ 8.44 (n = 109) ตามลำดับ แบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม Non-fermented bacteria (NFB) พบ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* คิดเป็นร้อยละ 7.28 (n = 94) และ 5.11 (n = 66) ตามลำดับ แบคทีเรียแกรมบวกพบ *Staphylococcus aureus* และ *Enterococcus* spp. ร้อยละ 16.10 (n = 208) และ 3.64 (n = 47) ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus*. *aureus* ที่ดื้อต่อยา methicillin (Methicillin resistant *Staphylococcus*. *aureus*, MRSA) ร้อยละ 39.9 (n = 83)

จากงานวิจัยของ ดร. ยุทธนา สุดเจริญ (2555) ได้คัดกรองเชื้อจากผู้ป่วยมะเร็งในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ โดยเชื้อที่คัดกรองได้ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) โดยแยกเชื้อได้จากแผลผ่าตัด / หนอง / tissue มากที่สุดคือ ร้อยละ 57.7

บทที่ 3
การดำเนินการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือ

1. ตู้อบ (Oven, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น UN 260)

2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, LABTECH)

3. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot plate stirrer, ยี่ห้อ Jlabtech, รุ่น LMS - 100)

4. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (balance 4 position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)

5. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (balance 4 position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)

6. Gas Chromatograph / Mass Spectrometer (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น GCMS 6890)

7. Gas Chromatography - Flame Ionization. Detector (GC-FID) (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น GCMS 6890)

8. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixers & Shakers ,ยี่ห้อ Scientific Industries, รุ่น Vortex Genie 2)

9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น WNB 7 - 45)

10. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave , ยี้ห้อ Hirayama, รุ่น HVE 50)

11. ตู้บ่มเชื้อ (Cooled Incubator, ยี่ห้อ Velp scientifica , รุ่น FOC2251)

12. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuges, ยี่ห้อ Hettich, รุ่น MIKRO 220R)

13. อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath, ยี่ห้อ witeg, รุ่น WUC-DO3H)

14. เครื่องวัดค่าหลายพารามิเตอร์ (Multi-parameter analyser , ยี่ห้อ Consort, รุ่น C3010)

วัสดุอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. หลอดหยดสาร (Dropper)

3. กระบอกตวง (Graduated cylinder)
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
5. หลอดทดลอง (Test tube)
6. ตะแกรงวางหลอดทดลอง (Test tube rack)
7. ปิเปตต์ (Measuring pipette)
8. ลูกยางดูดสารเคมี (Rubber pipette bulb)
9. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
10. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
11. อะลูมิเนียมฟลอยด์ (Aluminium foil)
12. สติกเกอร์กระดาษ (Paper label)
13. ปากกาเคมี
14. 96 well microtiter plate
15. Plate
16. 6 mm paper disc
17. Loop
18. กระจกนาฬิกา (Watch glass)

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. Hexane (Merck, Germany)
3. Ethanol (Merck, Germany)
4. น้ำมันไพล (Thai China Flavours& Fragrances Industry Co., Thailand)
5. Muller - Hinton broth (Himedia, India)
6. Muller - Hinton agar (Oxoid, United Kingdom)
7. DMSO (Merck, Germany)
8. Cetyl alcohol (Namsian, Thailand)
9. Stearyl alcohol (Namsian, Thailand)
10. Poloxamer 188 (Sigma, United States)
11. Sodium dodecyl sulfate (OmniPur, United States)
12. Ampicilin (Oxoid, United Kingdom)
13. Norfox (Oxoid, United Kingdom)

เชื้อแบคทีเรีย (จัดซื้อจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข)

1. *Staphylococcus aureus* DMST 8840

2. *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505

3. Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654, DMST 20646, DMST 20651 และ DMST 20652

4. *Escherichia coli* DMST 30541

5. *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739

6. *Streptococcus pyogenes* DMST 17020

ขั้นตอนการวิจัย

ในการพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผล ผู้วิจัยได้ดำเนินการต ามขั้นตอนดังนี้

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันไพลด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (GC-MS)

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ซื้อจากบริษัท Thai China Flavours & Fragrances Industry Co. (Thailand) ซึ่งสกัดจากพืชสมุนไพรโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จึงต้องมีการควบคุมคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยโดยการจำแนกองค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี GC-MS ดังนี้

1.1 เจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยเฮกเซนให้มีความเข้มข้น 1 µL/ml และวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ซึ่งดัดแปลงจากประสบอร รินทอง และคณะ (2556) ดังนี้

ใช้ Capillary column ชนิด RtX® -5 MS (ความยาวของ คอลัมน์ 30 m., เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm., ความ หนาของฟลิม์ 0.25 mm.) ระบบการฉีดสารประกอบด้วย อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร 250 °C อุณหภูมิของคอลัมน์ 37 °C เริ่มต้นจาก 80 °C (คงไว้ 2 นาที) และเพิ่มขึ้นในอัตรา 10 °C/min จนเป็น 280 °C (คงไว้ 1 นาที) แก๊สพาเป็น แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1 ml/min ปริมาตรที่ฉีด 1 ml. ใช้ Split mode ในอัตราส่วน 1:100 และ ionization 0 kV อุณหภูมิของส่วน ionization 230 °C ช่วงมวลใน การวิเคราะห์ 35-550 amu

1.2 เมื่อได้ Chromatogram ขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันไพลแล้ว นำมาจำแนกว่าเป็น peak ของสารประกอบชนิดใด โดยวิธีการเปรียบเทียบ mass spectra ของ peak ต่างๆ ในน้ำมันหอมระเหยกับ mass spectra ของสารมาตรฐานต่างๆ ใน library ของเครื่อง GC-MS โดย

พิจารณาเลือกสารมาตรฐานใน library ที่ให้ % matching กับ peak ของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าหรือเท่ากับ 85%

2. การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันไพล โดยวิธี Disk diffusion เชื้อที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* , Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654, DMST 20646, DMST 20651 และ DMST 20652, *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* และ *Streptococcus pyogenes*

2.1 นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller - Hinton agar (MHA)

2.2 เตรียม 95% Ethanol และน้ำมันไพลที่เจือจางด้วย 95% Ethanol ให้มีความเข้มข้น 200, 400 และ 800 µL/ml

2.3 นำสารละลายในข้อ 3.2.2 ปริมาตร 30 µL หยดลงบน perper disc ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

2.4 วางแผ่นยา Ampicillin และ Norfloxacin บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

2.5 วาง Paper disc ของน้ำมันไพลและ 95% Ethanol บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

2.6 บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยใช้ Vernir caliper วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) รอบ paper disc

2.7 ทำซ้ำ 3 ครั้งต่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด

3. การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันไพล โดยวิธี broth microdilution method

อ้างอิงตามวิธีของ Choi, J.-Y. *et al.* (2012) ทำโดยบ่มเชื้อ ~5x10^{7}CFU/ml พร้อมกับน้ำมันไพลในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Muller - Hinton broth, MHB) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.098 ถึง 800 mg/ml บ่มเชื้อข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงได้ผล Minimal Inhibitory Concentration (MIC) มา ซึ่งค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้ พิจารณาการยับยั้งเชื้อโดยการนำไปเทียบกับ well เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่น้ำมันไพลหรือ well ควบคุม

จากนั้นหาค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) โดยนำ well ที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อจากการหาค่า MIC มาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (MHA) หลังบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 99% กล่าวคือไม่พบโคโลนีเจริญบนอาหาร MHA

4. การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles, SLM) เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method

การเตรียม SLM

อ้างอิงตามวิธีของ Lertsatitthanakorn *et al*. (2013) ทำได้โดยละลายน้ำมันไพลใน Cetyl alcohol หรือ Stearyl alcohol ที่หลอมแล้วที่ 65 องศาเซลเซียสให้เป็นกลุ่ม A จากนั้นละลายสารลดแรงตึงผิวที่ผสมกันระหว่าง Poloxamer 188 และ sodium dodecyl sulfate ในอัตราส่วน 35:1 ลงในน้ำ ให้ความร้อน 65 องศาเซลเซียสให้เป็นกลุ่ม B นำสารกลุ่ม A และ สารกลุ่ม B มารวมกัน เขย่าบนเครื่องผสมสาร เป็นเวลา 1 นาที นำไปแช่ใน Ice bath 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จึงได้เม็ด SLM ของน้ำมันไพลออกมา

ตารางที่ 1 สูตรตำรับที่ใช้ในการผลิต SLM ของน้ำมันไพล (ใช้ 2 ตัวแปร, จำนวนตำรับ = 2^2 =4)

สารเคมี	ปริมาณสาร (%w/w)			
	สูตรที่ 1	**สูตรที่ 2**	**สูตรที่ 3**	**สูตรที่ 4**
ปริมาณของPlai essential oil	ปริมาณสูง	ปริมาณสูง	ปริมาณต่ำ	ปริมาณต่ำ
ชนิดของไขมัน	cetyl alcohol ปริมาณ z	Stearyl alcohol ปริมาณ z	cetyl alcohol ปริมาณ z	Stearyl alcohol ปริมาณ z
Mixed surfactant (35 : 1) Poloxamer 188 : Sodium dodecyl sulphate	y	y	y	Y
Purified water	x	x	x	X

5. หาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency, %EE) ในไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทุกตำรับ แต่ละตำรับทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย ดังนี้

1 ชั่งอนุภาคของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมา 0.5 g และเติม ethanol ใน volumetric flask ขนาด 25 ml แล้วนำไป sonicate ในเครื่อง Ultrasonic bath นาน 30 นาที เพื่อละลายผนังของ ไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2 นำสารละลายที่ได้มากรองผ่าน Membrane filter และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันไพลที่ถูกเก็บกักไว้ด้วยเครื่อง GC-FID จากนั้นนำผลที่ได้คำนวณหา %EE จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำมันไพล

3 คัดเลือก SLM ของน้ำมันไพลเพียงตำรับเดียว ที่มีร้อยละการกักเก็บสารสำคัญสูงสุด มาทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

6. นำ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก มาทดสอบการปลดปล่อยเพื่อวัดปริมาณของน้ำมันไพลที่ปลดปล่อยออกมา และหาระยะเวลาการปลดปล่อยน้ำมันไพลเปรียบเทียบกับน้ำมันไพลในรูปอิสระ โดยใช้เครื่อง Franz diffusion cell

การคำนวณหา Cumulative percentage release

Amount of drug released (ml/mg) =
Concentration × Dissolution bath volume × dilution factor

$$\textbf{Cumulative percentage release (\%)} = \frac{\text{Volume of sample withdrawn (ml)}}{\text{Bath volume (v)}} \times P\,(t-1) + Pt$$

Where Pt = Percentage release at time t

Where P (t – 1) = Percentage release previous to‘t’

7. ศึกษา SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ด้วยเครื่อง Particle size analyze

8. ศึกษาความคงตัวของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก ภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น รวม 5 รอบ คือนำ SLM บรรจุขวดสีชาปิดสนิทเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายมาเก็บที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ บันทึกลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี ระดับกลิ่น และวัด pH ของ SLM ก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ Mann Witney U test

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์และพัฒนา SLM ได้ดังนี้

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันไพลด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)

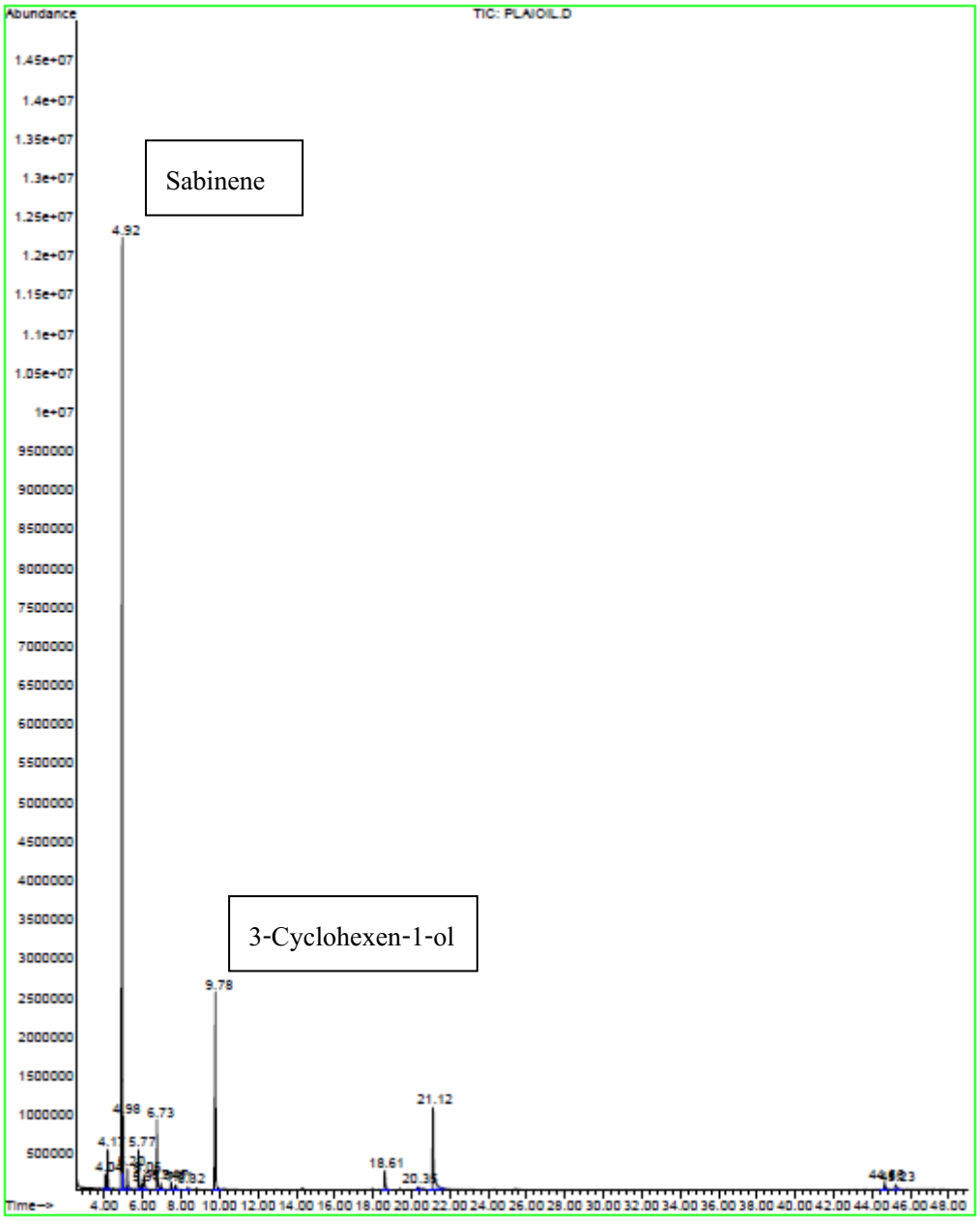
เจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยเฮกเซนให้มีความเข้มข้น1 µL/ml และวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ซึ่งดัดแปลงจาก ประสบอร รินทอง และคณะ (2013) เมื่อได้ Chromatogram ขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยไพลแล้ว นำมาจำแนกว่าเป็น peak ของสารประกอบชนิดใด โดยวิธีการเปรียบเทียบ mass spectra ของ peak ต่างๆในน้ำมันหอมระเหยกับ mass spectra ของสารมาตรฐานต่างๆ ใน library ของเครื่อง GC-MS โดยพิจารณาเลือกสารมาตรฐานใน library ให้ %matching กับ peak ของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าหรือเท่ากับ 85% **ดังตารางที่ 2**

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยไพล

Peak number	RT	Area%	Compound name
1	4.01	0.74	α-Thujene
2	4.17	1.78	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene
3	4.92	56.98	Sabinene
4	4.98	2.89	Bicyclo[3.1.1]heptane
5	5.20	1.24	β-Myrcene
6	5.77	2.34	α-Terpinene
7	5.96	0.34	Benzene
8	6.06	1.35	β-Phellandrene

Peak number	RT	Area%	Compound name
9	6.73	4.39	π-Terpinene
10	7.47	0.72	α-Terpinolene
11	9.78	14.45	3-Cyclohexen-1-ol
12	18.61	1.77	β-Sesquiphellandrene
13	-	11.01	Unkonw
Total		100.00	

จากตารางที่ 2 พบว่า Sabinene มีปริมาณมากที่สุด อยู่ที่ 56.98 จาก %Area ทั้งหมด และพบ 3-Cyclohexen-1-ol, π-Terpinene, Bicyclo[3.1.1]heptane และ α-Terpinene 14.45, 4.39, 2.89 และ 2.34 ตามลำดับ



ภาพที่ 5 โครมาโทแกรมแสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยไพล

2. การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลติดเชื้อต่อน้ำมันหอมระเหยไพล โดยวิธี Disk diffusion ต่อเชื้อแบคทีเรีย 11 ชนิด **ดังตารางที่ 3**

ตารางที่ 3 แสดงความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันหอมระเหยไพล โดยวิธี Disk diffusion

Pathogen	Blank	*Zingiber cassumunar* (Plai) essential oil			Norfloxacin 10 (µg)	Ampicillin 10 (µg)
		179 (mg/ml)	358 (mg/ml)	716 (mg/ml)		
Staphylococcus aureus DMST 8840	-	-	7.63 ± 1.23	11.02 ± 1.07[b]	20.75 ± 0.97[c]	25.03 ± 8.18[d]
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	-	-	7.38 ± 0.28	8.50 ± 1.09[b]	33.12 ± 0.80[c]	-
Streptococcus pyogenase DMST 17020	-	-	8.00 ± 1.00	10.70 ± 1.20[b]	-	25.70 ± 1.20[d]
MRSA DMST 20645	-	-		7.67 ± 2.60	-	-
MRSA DMST 20646	-	-	-	-	-	-
MRSA DMST 20649	-	-	-	9.17 ± 0.81	-	-
MRSA DMST 20651	-	-	-	6.57 ± 1.19	-	-
MRSA DMST 20652	-	-	-	-	-	-
MRSA DMST 20654	-	-	-	9.30 ± 1.51	-	-
Pseudomonas aeruginosa DMST 4739	-	-	-	-	27.80 ± 0.96	-
Enterotoxigenic Escherichia coli DMST 30541	-	8.63 ± 0.13*	11.20 ± 1.09[a]	12.75 ± 0.65[b]	31.52 ± 2.96[c]	17.25 ± 1.20[d]

หมายเหตุ – หมายถึงไม่มี Clear Zone

[a] คือ ค่า clear zone ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่ 179 และ 358 (mg/ml) ($P > 0.05$)

[b] คือ ค่า clear zone ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่ 358 และ 719 (mg/ml) ($P > 0.05$)

[c] คือ ค่านัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่ 719 และ Norfloxacin disc ($P > 0.05$)

[d] คือ ค่านัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่ 719 และ Ampicillin disc ($P > 0.05$)

จากตารางที่ 3 พบว่าปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Clear Zone) มีค่าดังนี้

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.63±1.23 และ 11.02±0.97 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.75±0.97 และ 25.03±8.18 mm ตามลำดับ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.38 ± 0.28 และ 8.50 ± 1.09 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.12 ± 0.80 mm และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenase* DMST 17020 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.00 ± 1.00 และ 10.70 ± 1.20 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.70 ± 1.20 mm และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ Enterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 ที่ความเข้มข้น 179, 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.63 ± 0.13, 11.20 ± 1.09 และ 12.75 ± 0.65 mm ตามลำดับ และค่าน้ำมันไพลความเข้มข้น 179 กับ 358 mg/ml ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และค่าน้ำมันไพลความเข้มข้น 358 กับ 719 mg/ml ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.52 ± 2.96 และ 17.25 ± 1.20 mm ตามลำดับ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลเข้มข้น 716 mg/ml ต่อเชื้อ MRSA DMST 20645, 20649, 20651 และ 20654 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.67 ± 2.60, 9.17 ± 0.81, 6.57 ± 1.19 และ 9.30

± 1.51 ตามลำดับ และ-Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ไม่เกิด Inhibition zone ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้

ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.80 ± 0.96 mmและน้ำมันหอมระเหยไพล และ Ampicillin disc ต่อเชื้อนี้ ไม่เกิด Inhibition zone

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพล Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อ MRSA DMST 20646 และ 20652 คือ ไม่เกิด Inhibition zone

3. ผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลติดเชื้อต่อน้ำมันไพล โดยวิธี broth microdilution method ต่อเชื้อแบคทีเรีย 11 ชนิด อ้างอิงตามวิธีของ Choi, J.-Y., *et al.* (2012) **ดังตารางที่ 4**

ตารางที่ 4 แสดงความไวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลต่อน้ำมันไพล โดยวิธี broth microdilution method

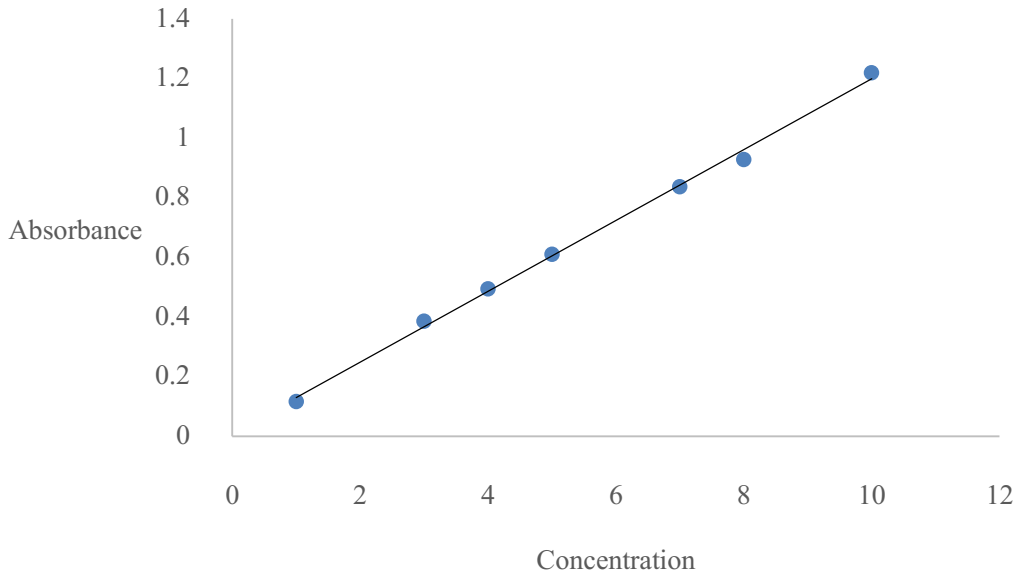
Pathogen	***Zingiber cassumunar* (Plai) essential oil**	
	MIC (mg/ml)	**MBC (mg/ml)**
Staphylococcus aureus DMST 8840	44.75	≥179
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	179	≥179
Streptococcus pyogenase DMST 17020	11.19	44.75
MRSA DMST 20645	2.8	179
MRSA DMST 20646	179	179
MRSA DMST 20649	179	179
MRSA DMST 20651	179	≥179
MRSA DMST 20652	179	≥179
MRSA DMST 20654	179	≥179
Pseudomonas aeruginosa DMST 4739	44.75	≥179
Enterotoxigenic Escherichia coli DMST 30541	179	≥179

จากตารางที่ 4 พบว่า ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่สามารถยับยังและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนี้

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenase* DMST 17020, MRSA DMST 20645, 20646, 20649, 20651, 20652, 20654 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739 และEnterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 44.75, 179, 11.19, 2.8, 179, 179, 179, 179, 179, 44.75 และ 179 mg/ml ตามลำดับ

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่สามารถฆ่าเชื้อ เชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenase* DMST 17020, MRSA DMST 20645, 20646, 20649, 20651, 20652, 20654 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739 และEnterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ≥179, ≥179, 44.75, 179, 179, 179, ≥179, ≥179, ≥179, ≥179 และ ≥179 mg/ml ตามลำดับ

4. ผลการพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method ดังตารางที่ 5 และ 6 การเตรียม SLM อ้างอิงตามวิธี Lertsatitthanakorn, P. *et al.* (2013)



ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Curcumin

ตารางที่ 5 สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งใส่ Curcumin เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method

Formula	Essential oil (%w/w)	Cetyl alcohol (%w/w)	Stearyl alcohol (%w/w)	Poloxamer (%w/w)	SDS (%w/w)	Water (%w/w)
C1	4.2	8.5	0	5.62	0.16	81.50
C2	7.2	5.5	0	5.62	0.16	81.50
S1	4.2	0	8.5	5.62	0.16	81.50
S2	7.2	0	5.5	5.62	0.16	81.50

จากตารางที่ 5 พบว่า สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งใส่ Curcumin เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method เนื่องจากเพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์จึงใส่ Curcumin แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-visible พบว่า สูตร C2 ดีที่สุด เนื่องจาก SLM ที่ได้ไม่เกาะตัวกันเป็นก้อนแข็ง

ตารางที่ 6 สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method

Formula	Essential oil (%w/w)	Cetyl alcohol (%w/w)	Stearyl alcohol (%w/w)	Poloxamer (%w/w)	SDS (%w/w)	Water (%w/w)
NC1	8.96	5.50	0.00	5.64	0.16	79.74
NC2	8.96	5.50	0.00	6.00	0.17	79.37
NS1	8.96	0.00	5.50	5.64	0.16	79.74
NS2	8.96	0.00	5.50	6.00	0.17	79.37

จากตารางที่ 6 พบว่าสูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method เนื่องจากการทดลองการกักเก็บน้ำมันไพลเบื้องต้น ดังนั้นจึงได้ทำการปรับสัดส่วนขององค์ประกอบที่ไม่เติม Curcumin ลงในน้ำมันไพลดังตารางนี้ โดยเพิ่ม Poloxamer เพื่อทำให้มีการกักเก็บของน้ำมันไพลสูงขึ้น พบว่า สูตร NC2 ดีที่สุด เนื่องจาก SLM ที่ได้ไม่เกาะตัวกันเป็นก้อนแข็ง

5. ผลหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%EE) ดังตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 แสดงค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญใส่ Curcumin (%EE) ของ SLM

Sample	% Mean ± SD
C1	17.41 ± 5.34
C2	21.13 ± 13.30
S1	12.98 ± 11.52
S2	9.90 ± 6.48

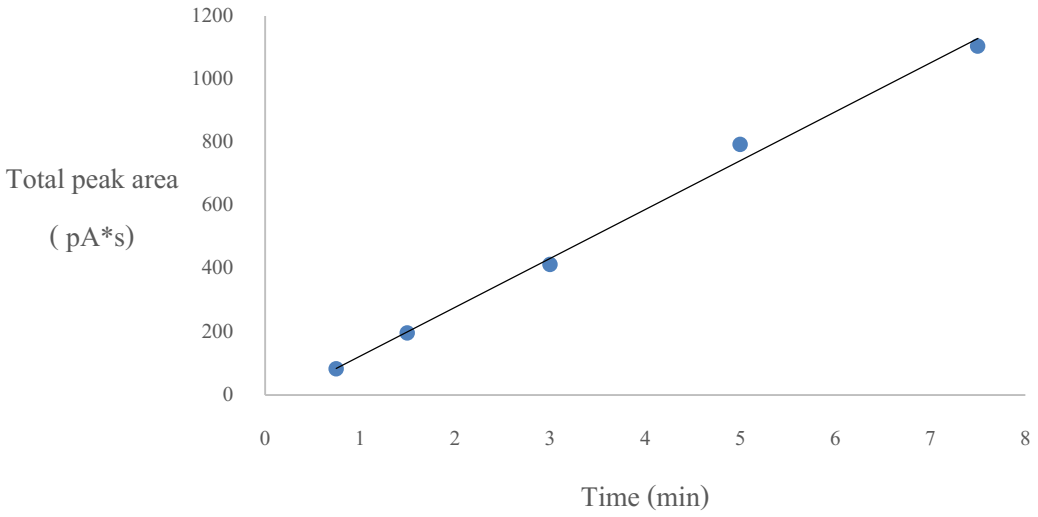
จากตารางที่ 7 พบว่า สูตร C1, C2, S1 และ S2 มีค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ เฉลี่ยเท่ากับ 17.41 ± 5.34, 21.13 ± 13.30, 12.98 ± 11.52 และ 9.90 ± 6.48 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดงค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%EE) ของ SLM

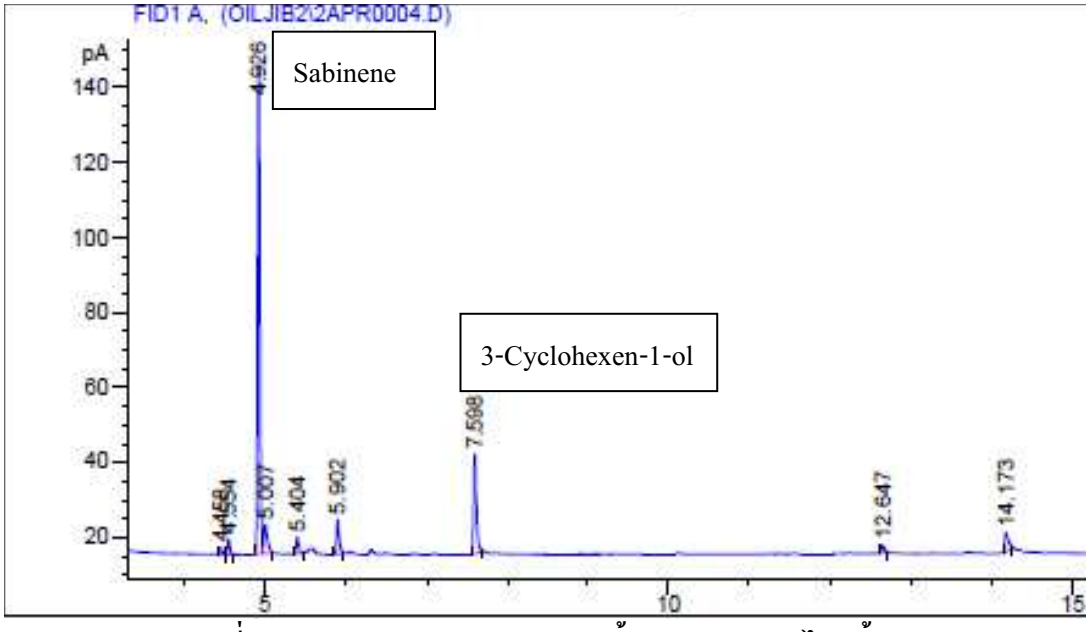
Sample	% Mean ± SD
NC1	6.240 ± 3.035
NC2	7.661 ± 6.461
NS1	16.538± 3.121
NS2	33.667± 5.842

จากตารางที่ 8 พบว่า สูตร NC1, NC2, NS1 และ NS2 มีค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญเฉลี่ยเท่ากับ 6.240 ± 3.035, 6.240 ± 3.035, 16.538± 3.121 และ 33.667± 5.842 ตามลำดับ เนื่องสูตร NC2 มีการคงตัวที่ดีที่สุด จึงเลือกสูตร NC2 มาทดสอบในขั้นตอนต่อไป

6. ผลของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก มาทดสอบการปลดปล่อยเพื่อวัดปริมาณของน้ำมันไพลที่ปลดปล่อยออกมา และหาระยะเวลาการปลดปล่อยน้ำมันไพลเปรียบเทียบกับน้ำมันไพลในรูปอิสระ โดยใช้เครื่อง Franz diffusion cell ดังตารางที่ 9 และ 10



ภาพที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและพื้นที่ใต้กราฟของ SLM ที่ไม่เติม Crucumin



ภาพที่ 8 แสดง peak area ของสารจากน้ำมันหอมระเหยไพลทั้งหมด

ตารางที่ 9 แสดง % Cumulative release ของ SLM

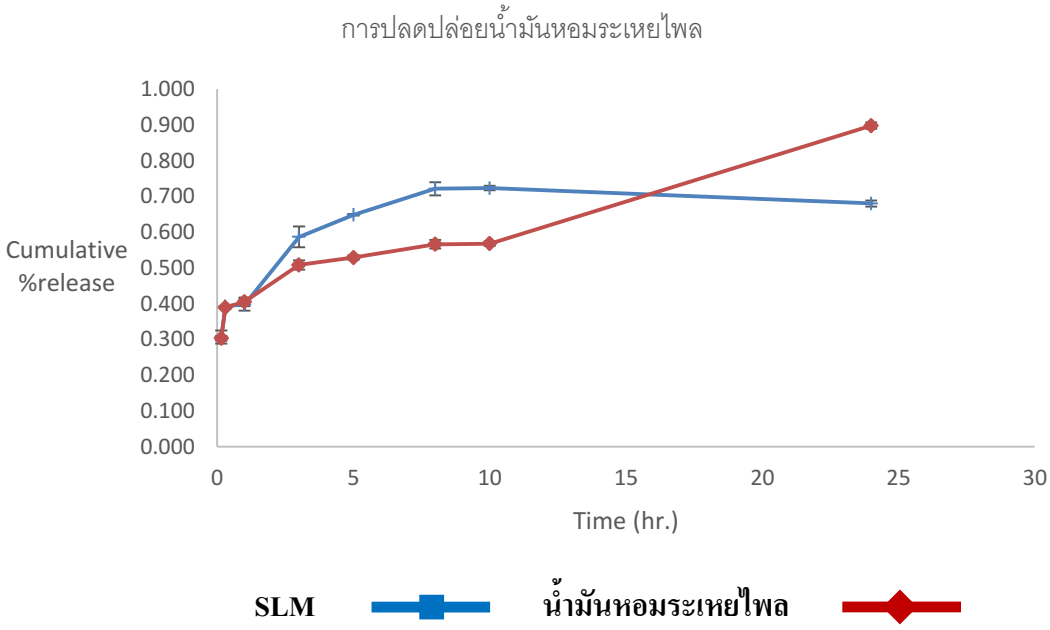
Time (hr.)	mean ± SD
0.15	0.307 ± 0.019
0.3	0.393 ± 0.001
1	0.397 ± 0.017
3	0.587 ± 0.029
5	0.649 ± 0.002
8	0.722 ± 0.018
10	0.724 ± 0.006
24	0.681 ± 0.008

จากตารางที่ 9 พบว่า ใน 0.15, 0.3, 1, 3, 5, 8, 10 และ 24 มีการปลดปล่อยของน้ำมันหอมระเหยไพล มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.307 ± 0.019, 0.393 ± 0.001, 0.397 ± 0.017, 0.587 ± 0.029, 0.649 ± 0.002, 0.722 ± 0.018, 0.724 ± 0.006 และ 0.681 ± 0.008 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 แสดง % Cumulative release ของน้ำมันหอมระเหยไพล

Time (hr.)	mean ± SD
0.15	0.303 ± 0.007
0.3	0.389 ± 0.003
1	0.406 ± 0.012
3	0.509 ± 0.013
5	0.529 ± 0.006
8	0.566 ± 0.012
10	0.568 ± 0.007
24	0.898 ± 0.009

จากตารางที่ 10 พบว่า ใน 0.15, 0.3, 1, 3, 5, 8, 10 และ 24 มีการปลดปล่อยของน้ำมันหอมระเหยไพล มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.303 ± 0.007, 0.389 ± 0.003, 0.406 ± 0.012, 0.509 ± 0.013, 0.529 ± 0.006, 0.566 ± 0.012, 0.568 ± 0.007 และ 0.898 ± 0.009 ตามลำดับ



ภาพที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ Cumulative %release เปรียบเทียบระหว่าง SLM และน้ำมันหอมระเหยไพล

7. ผลของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ ด้วยเครื่อง Particle size analyze ดังตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 11 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจากตำรับที่ดีที่สุด ด้วยเครื่อง Particle size analyzer

Size (µm)	% Volume In	Size (µm)	% Volume In
1.65	0.07	31.1	1.66
1.88	0.07	35.3	1.93
2.13	0.05	40.1	2.38
4.03	0.07	45.6	3.03
4.58	0.1	51.8	3.86
5.21	0.14	58.9	4.81
5.92	0.22	66.9	5.8
6.72	0.33	76	6.71
7.64	0.47	86.4	7.43
8.68	0.65	98.1	7.83

Size (µm)	% Volume In	Size (µm)	% Volume In
9.86	0.84	111	7.86
11.2	1.03	127	7.49
12.7	1.2	144	6.76
14.5	1.34	163	5.8
16.4	1.43	186	4.71
18.7	1.47	211	3.63
21.2	1.47	240	2.54
24.1	1.48	272	1.46
27.4	1.52	310	0.37

จากตารางที่ 11 พบว่า แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจากตำรับที่ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 111 µm เป็นปริมาณที่มากที่สุดมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 7.86 ของทั้งหมด

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณขนาด SLM

	Dx (10) (µm) (mean ± SD)	**Dx (50) (µm) (mean ± SD)**	**Dx (90) (µm) (mean ± SD)**
Sample	22.2 ± 0.191	95.5 ± 0.342	200 ± 0.455

8. ผลความคงตัวของ SLM ของน้ำมันไพลตำรับที่เลือก ภายใต้สภาวะเร่ง โดยการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น รวม 5 รอบ กล่าวคือนำ SLM บรรจุขวดสีชาปิดสนิทเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายมาเก็บที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ บันทึกลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น และวัด pH ของ SLM ก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น **ดังตารางที่ 13**

ตารางที่ 13 แสดงร้อยละการปลดปล่อยของน้ำมันไพล เติมลักษณะทางกายภาพ

Sample	pH (mean ± SD)	สี	กลิ่น (ค่าเฉลี่ยคะแนน)	ลักษณะทางกายภาพ
ก่อน Cold and Thraw	5.57 ± 0.08	เหลือง	2	แยกชั้น 2 ชั้น (น้ำและ SLM)
หลัง Cold and Thraw	4.88 ± 0.10	เหลือง	3	แยกชั้น 3 ชั้น (น้ำ SLM และน้ำมัน)

หมายเหตุ ระดับ 5 = กลิ่นแรงมากที่สุด 4 = กลิ่นแรงมาก 3 = กลิ่นแรงปานกลาง 2 = กลิ่นแรงเล็กน้อย และ 1 = ไม่มีกลิ่นเลย

จากตารางที่ 13 พบว่า SLM ก่อนและหลัง Cold and Thaw มีค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 5.57 ± 0.08 และ 4.88 ± 0.10 ตามลำดับ และมีลักษณะสีที่เหลืองเหมือนกัน และกลิ่นมีค่านิยมอยู่ที่ ระดับ 2 และ ระดับ 3 ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพดังนี้ แยกชั้น 2 ชั้น (น้ำและ SLM) และ แยกชั้น 3 ชั้น (น้ำ SLM และน้ำมัน) ตามลำดับ

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนัง

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้พบว่า

1. การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพล โดยการนำน้ำมันไพลมาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันไพลด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (GC-MS) โดยการเจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยเฮกเซนให้มีความเข้มข้น1 µL/ml และวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ซึ่งดัดแปลงจาก ประสบอร รินทอง และคณะ (2013) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยไพลมีองค์ประกอบดังนี้ α-Thujene, Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, Sabinene, Bicyclo [3.1.1] heptane, β-Myrcene, α-Terpinene ,Benzene, β-Phellandrene, π-Terpinene, α-Terpinolene, 3-Cyclohexen-1-ol และ β-Sesquiphellandrene ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 0.74, 1.78, 56.98, 2.89, 1.24, 2.34, 0.34, 1.35, 4.39, 0.72, 14.45, 1.77 และ 11.04 ตามลำดับ ซึ่ง Sabinene มีปริมาณ (Area %) มากที่สุด คือ (Area %) 56.98 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับมาตรฐานอุตสาหกรรมน้ำมันไพลซึ่งกำหนดโดย กระทรวงอุตสาหกรรม มาตรฐานเลขที่ มอก.1679-2541 ที่กำหนดปริมาณสารสำคัญของน้ำมันไพล และเป็นไปตามงานวิจัยของของวรรณี สมัปปิโตและทรรศนีย์ พัฒนเสรี ที่หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยไพล ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยนี้

2. จากนั้นนำน้ำมันไพลมาทดสอบความไวต่อของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของแผล ผลที่ได้ มีดังนี้

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.63±1.23 และ 11.02±0.97 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.75±0.97 และ 25.03±8.18 mm ตามลำดับ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน

ทางสถิติ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.38 ± 0.28 และ 8.50 ± 1.09 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.12 ± 0.80 mm และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenase* DMST 17020 ที่ความเข้มข้น 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.00 ± 1.00 และ 10.70 ± 1.20 mm ตามลำดับ ค่าทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.70 ± 1.20 mm และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อเชื้อ Enterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 ที่ความเข้มข้น 179, 358 และ 719 mg/ml มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.63 ± 0.13, 11.20 ± 1.09 และ 12.75 ± 0.65 mm ตามลำดับ และค่าน้ำมันไพลความเข้มข้น 179 กับ 358 mg/ml ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และค่าน้ำมันไพลความเข้มข้น 358 กับ 719 mg/ml ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.52 ± 2.96 และ 17.25 ± 1.20 mm ตามลำดับ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Norfloxacin ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และน้ำมันไพลความเข้มข้น 719 mg/ml กับ Ampicillin disc ให้ค่า Inhibition zone เฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพลเข้มข้น 716 mg/ml ต่อเชื้อ MRSA DMST 20645, 20649, 20651 และ 20654 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.67 ± 2.60, 9.17 ± 0.81, 6.57 ± 1.19 และ 9.30 ± 1.51 ตามลำดับ และ Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ไม่เกิด Inhibition zone ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้

ค่า Inhibition zone ของ Norfloxacin disc ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.80 ± 0.96 mm และน้ำมันหอมระเหยไพล และ Ampicillin disc ต่อเชื้อนี้ ไม่เกิด Inhibition zone

ค่า Inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยไพล Norfloxacin disc และ Ampicillin disc ต่อเชื้อ MRSA DMST 20646 และ 20652 คือ ไม่เกิด Inhibition zone

จากเมื่อทราบความเข้มข้น จึงนำความเข้มข้นที่ได้มาทดสอบความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenase* DMST 17020, MRSA DMST 20645, 20646, 20649, 20651, 20652, 20654 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739 และ Enterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 มีค่าเท่ากับ 44.75, 179, 11.19, 2.8, 179, 179, 179, 179, 179, 44.75 และ 179 mg/ml ตามลำดับ และ ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยไพลที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) เชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenase* DMST 17020, MRSA DMST 20645, 20646, 20649, 20651, 20652, 20654 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739 และ Enterotoxigenic *Escherichia coli* DMST 30541 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ≥179, ≥179, 44.75, 179, 179, 179, ≥179, ≥179, ≥179, ≥179 และ ≥179 mg/ml ตามลำดับ

การพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles) เพื่อเก็บกักน้ำมันไพล โดยวิธี Melt dispersion method แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งใส่ Curcumin ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ได้ จึงสามารถหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญได้ง่าย และเมื่อทำการหาค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) ได้สูตรที่ดีที่สุดคือ น้ำมันไพล 7.2%, Cetyl alcohol 5.5%, Poloxamer 5.62%, SDS 0.16% และ Water 81.50% เมื่อได้ส่วนแรกแล้วจึงทำส่วนที่สองคือการพัฒนาไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งโดยไม่เติม Curcumin และหาค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) ได้สูตรที่ดีที่สุดคือ น้ำมันไพล 8.96%, Cetyl alcohol 5.5%, Poloxamer 6.00%, SDS 0.17% และ Water 79.37% เมื่อได้สูตรไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles) ที่ดีที่สุดทั้งสองส่วนแล้ว จึงนำมาหาร้อยละการปลดปล่อยสะสมของน้ำมันไพล (% Cumulative release**)** ในส่วนแรกโดยเทียบระหว่างร้อยละการปลดปล่อยกับเวลา และเปรียบเทียบกับ Free plai oil ผลที่ได้พบว่าไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles) มีการปลดปล่อยน้ำมันไพลที่คงที่เมื่อเวลาผ่านไป (Lertsatitthanakorn *et al.*, 2013) ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Mehnert and Mader (2001)

การวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles) ผลที่ได้ พาร์ทิเคิลซึ่งมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 111 μm มีปริมาณที่มากที่สุด คือมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 7.86 ของพาร์ทิเคิลทั้งหมด

การศึกษาความคงตัวในสภาวะเร่ง (Cold and thaw) ของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid Lipid Microparticles) ที่ใส่ Curcumin จำนวน 5 รอบ หรือ 10 วัน ผลที่ได้พบว่าพาร์ทิเคิลมีค่า pH, สี, ระดับกลิ่น และ ลักษณะทางกายภาพ ดังนี้ ก่อน Cold and Thaw 5.57 ± 0.08, เหลือง, ระดับ 2

และ แยกชั้น 2 ชั้น (น้ำและ SLM) และ หลัง Cold and Thaw 4.88 ± 0.10, เหลือง, ระดับ 3 และ แยกชั้น 3 ชั้น (น้ำ SLM และน้ำมัน) ตามลำดับ

อภิปรายผล

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันไพลที่ซื้อจากบริษัทเครื่องหอมไทยจีนด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (GC-MS) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยไพลมีองค์ประกอบดังนี้ α-Thujene, Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, Sabinene, Bicyclo [3.1.1] heptane, β-Myrcene, α-Terpinene ,Benzene, β-Phellandrene, π-Terpinene, α-Terpinolene, 3-Cyclohexen-1-ol และ β-Sesquiphellandrene ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 0.74, 1.78, 56.98, 2.89, 1.24, 2.34, 0.34, 1.35, 4.39, 0.72, 14.45, 1.77 และ 11.04 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยไพลและพบสารสำคัญต่างๆ (วรรณี สมัปปิโต และคณะ, 2559) และเป็นตามข้อกำหนดของ มอก. ว่าด้วย “น้ำมันไพลสกัดได้จากเหง้าของไพลโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัว องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ α-pinene, sabinene α-terpinene γ-perpinene และ terpinene-4-ol” (สมอ. สาร, 2545)

การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันไพล โดยใช้เชื้อแบคทีเรียดังนี้ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa,* Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654, DMST 20646, DMST 20651 และ DMST 20652, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลที่ได้พบว่าน้ำมันไพลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa,* Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20645, DMST 20649, DMST 20654 และ DMST 20651, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonyanugomol *et al.* (2017) ที่ศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันไพลในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml มีค่า Inhibition zone อยู่ที่ 11.33 ± 0.57 และ 14.00 ± 1.73 ตามลำดับ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sroiphetcharat *et al*. (2017) ที่ใช้น้ำมันหอมระเหยไพลในการต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ด้วยวิธี disk diffusion ผลที่ได้น้ำมันไพลสามารถต้านเชื้อได้ และสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณี สมัปปิโต (2016) ได้ใช้น้ำมันหอมระเหยไพลในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี

Disk diffusion method MIC และ MBC ผลที่ได้น้ำมันไพลสามารถยับยังเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้

การเตรียม Solid Lipid Microparticles ด้วยวิธี Melt dispersion method โดยใช้ Cetyl alcohol ทำให้ได้ Solid Lipid Microparticles ที่มีสีเหลือง(น้ำมันไพลใส่ Curcumin) และที่ไม่มีสี (น้ำมันไพลไม่ใส่ Curcumin) จากนั้นนำไปหา ร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) พบว่าผลที่ได้คล้ายคลึงกัน เนื่องจากผลการวิเคราะห์ร้อยละการกักเก็บน้ำมันไพลไม่มีสีที่ทดสอบด้วยเครื่อง GC-FID มีความน่าเชื่อถือมากกว่าการวิเคราะห์ร้อยละการกักเก็บน้ำมันไพลสีเหลืองที่ทดสอบด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง แต่การวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นการทดลองอย่างง่ายเพื่อดูปริมาณของน้ำมันไพลขั้นเบื้องต้น เพื่อที่ทำการทดสอบด้วยเครื่อง GC-FID ต่อไป

จากการทดลองหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment efficiency) พบว่าผลที่ได้คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Lertsatitthanakorn P. *et al.* (2013) ที่ใช้ Cetyl Alcohol เป็นตัวกักเก็บน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม มีร้อยละการกักเก็บที่สูงเมื่อเทียบกับ wax ชนิดอื่นๆ และมีขนาดและการกระจายตัวที่ค่อนข้างสม่ำเสมอกัน อีกทั้งมีร้อยละการปลดปล่อยที่คงที่และเนิ่นนาน เมื่อเทียบกับ Free plai oil (น้ำมันไพลผสมกับ wax) ผลที่ได้ต่างกันอย่างชัดเจน โดยเริ่มแรก Solid Lipid Microparticles จะมีการปลดปล่อยที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อถึงชั่วโมงที่ 10 จะมีการปลดปล่อยคงที่ ต่างจาก Free plai oil ที่มีการปลดปล่อยสูงขึ้นเรื่อยๆ ตามเวลาที่ผ่านไป ทำให้ไม่สามารถปลดปล่อยน้ำมันไพลที่ผิวหนังได้ต่อเนื่องและมีอาจทำให้น้ำมันไพลมีปริมาณมากขึ้นจนทำให้เกิดการอักเสบและระคายเคืองผิวหนังขึ้นได้

ข้อเสนอแนะ

เพิ่มความสามารถของไมโครพาร์ทิเคิลในการกักเก็บสารสำคัญคือน้ำมันไพลให้มากขึ้น โดยใช้เทคนิคทางเภสัชกรรม เช่น เติมสารเพิ่มความหนืดลงในน้ำมันไพล หรือใช้ไขมันชนิดอื่นร่วมด้วย ซึ่งอาจส่งผลให้ร้อยละการกักเก็บเพิ่มขึ้น อันจะส่งผลให้ระยะเวลาการปลดปล่อยน้ำมันไพลยาวนานขึ้น

ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป

นำไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งของน้ำมันไพลที่ปรับสูตรตำรับให้เก็บกักน้ำมันไพลได้มากขึ้นแล้วไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุแผลผิวหนังในผลิตภัณฑ์ใช้ภายนอก

บรรณานุกรม

กมลวิช เลาประสพวัฒนา. (2552). **โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล** (พิมพ์ครั้งที่ 1). สงขลา: ชานเมืองการพิมพ์.

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). **สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล**. เรียกใช้เมื่อ ธันวาคม 2559 จาก http://www.medplant.mahidol.ac.th: http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/zincus.html

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2553). **ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. เรียกใช้เมื่อ 2559 ธันวาคม 25 จาก thaicrudedrug: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=96

คณะอนุกรรมการจัดทำตำราอ้างอิงยาสมุนไพรไทย. (2555). ต้นร่างอ้างอิงสมุนไพรไทย : ไพล (PHLAI). **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก** *, 10* (1), 52-56.

เทพ หิมะทองคำ และคณะ. (2552). **ความรู้เรื่องเบาหวาน ฉบับสมบูรณ์** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: วิทยพัฒน์.

นิจศิริ เรืองรังสี. (2550). ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหย. ใน เทวัญ ธานีรัตน์และคณะ (น. 11-48). **ตำราวิชาการสุคนธบำบัด.** กรุงเทพมหานคร: สำนักกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

ประณีต โอปณะโสภิต และสุวรรณี พนมสุข. (2554). **ระบบนำส่งยา**. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ประสบอร รินทอง, วัชรินทร์ พากฏิพัทธ, ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร และวนิดา ไทรชมภู. (2557). การตรวจเอกลักษณ์เครื่องยาเร่วน้อย (Amomum uliginosum K.D.Koenig) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอตำ แหน่ง ITS1 ของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ. **เภสัชศาสตร์อีสาน** *, 10* (1), 32-41.

ปิ่นมณี พูนสุข, พิชชานี เหลืองอิงคสุต และคัทลียา เมฆจรัสกุล. (2559). การพัฒนาตำรับโลชันทาตัวที่เตรียมจากปวกหาด. **เภสัชศาสตร์อีสาน** *, 11* (ฉบับพิเศษ), 61-69.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2552). **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ และศูนย์สมุนไพรทักษิณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. (2551). **สมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: จ.เจริญการพิมพ์.

ภาวิณี อุ่นกอง. (2554). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดจากพืชในวงศ์ขิงข่าในการต้าน Staphyloccusaureus สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาและสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเมทิซิลลิน. **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ** *มหาวิทยาลัยบูรพา* .

มุกริน หนูคง, นักรบ นาคประสม และภาวิณี อารีศรีสม. (2557). **การศึกษาหาสภาวะที่ เหมาะสมในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากไพลโดยการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ**. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ยุทธนา สุดเจริญ. (2554). **การประเมินประสิทธิภาพ latex agglutination test สำหรับตรวจคัดกรอง Staphylococcus aureus ดื้อต่อยา methicillin ที่แยกได้จากผู้ป่วยมะเร็ง**. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

ยุทธนา สุดเจริญ. (2554). **การแยกเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลจากผู้ป่วยโรคมะเร็ง**. กรุงเทพฯ: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

เลาแระสพวัฒนา, ก. (2552). **โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล**. สงขลา: ชานเมืองการพิมพ์.

วรมนต์ ตรีพรหม. (2531). **แผลและการพยาบาลผู้ป่วยที่มีบาดแผล** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตน์.

วรรณี สมัปปิโต, ศภชัย สมัปปิโต และลือชัย บุตคป. (2017). ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดไพลและน้ำมันไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเร้อแบคทีเรียก่อโรค. **Journal of Science & Technology MSU** *, 36* (1), 53-60.

วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. (2552). **นาโนเทคโนโลยี การนำส่งยาและเครื่องสำอางทางผิวหนัง** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ประชาชนจำกัด.

วรี ติยะบุญชัย. (2556). **ไมโครเอนแคปซูเลชัน = Microencapsulation**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วิรัตน์ ศรีนพคุณและศรี ศรีนพคุณ. (2543). **การปฐมพยาบาล** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีระศักดิ์ ศรินนภากร, ชัยชาญ ดีโรจนวงศ์, ทองคำ สุนทรเทพวรากุล, สถิตย์ นิรมิตรมหาปัญญา และ มหาวิทยาลัยรังสิต คณะแพทยศาสตร์ กลุ่มงานอายุรศาสตร์ งานต่อมไร้ท่อ. (2553). **โรคเบาหวาน Cases approach for diabetes mellitus management** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: กรุงเทพเวชสาร.

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (ม.ป.ป.). **น้ำมันหอมระเหยและสุคนธบำบัด**. เรียกใช้เมื่อ มกราคม 2557 จาก http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR22.pdf

สิริลักษณ์ มาลานิยม. (2545). น้ำมันหอมระเหย สารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย. **สมอ สาร** , *28* (325), 3-6.

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. (2555). **จุลชีวะวิทยาทางการแพทย์ : แบตทีเรียก่อโรค** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิตและวัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. (2553). **แบคทีเรียทางการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย.

Akinjogunla, O. J., Adegoke, A. A., Mbot,o C. I., Chukwudebelu, I. C. & Udokang, I. P. (2009). Bacteriology of automobile accident wounds infection. **International Journal of Medicine and Medical Sciences** *, 1* (2), 023-027.

Baimark, Y. (2009a). Porous microspheres of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(ε-caprolactone-co-d,l-lactide) prepared by a melt dispersion method. **Polymer** *, 50* (20), 4761-4767.

Baimark, Y. (2009b). Preparation of Organic Solvent/Surfactant-Free Microspheres of Methoxy Poly(Ethylene Glycol)-b-Poly(ε-Caprolactone) by a Melt Dispersion Method. **Asian Journal of Applied Sciences** *, 2* (4), 341-347.

Battaglia, L., Gallarate, M., Panciani, P. P., Ugazi,o E., Sapino, S., Peira, E. & Chirio, D. (2014). Techniques for the preparation of Solid Lipid Nano and Microparticles. **Application of Nanotechnology in Drug Delivery** , 51-75.

Boonyanugomol, W., Kraisriwattana, K., Rukseree, K., Boonsam, K. & Narachai, P. (2017). In vitro synergistic antibacterial activity of the essential oil from Zingiber cassumunar Roxb against extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii strains. **Journal of Infection and Public Health** *, 10* (5), 586-592.

Casqueiro, J., Casqueiro, J. & Alves, C. (2012). Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism** *, 16* (Supplement 1), 27-36.

Chandrasekaran, A. R., Jia, C. Y., Theng, C. S., Muniandy, T., Muralidharan, S. & Dhanaraj, S. A. (2011). Invitro studies and evaluation of metformin marketed tablets-Malaysia. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** *, 1* (5), 214-217.

Choi, J.-Y., Damte, D., Lee, S.-J., Kim, J.-C. & Park, S.-C. (2012). Antimicrobial Activity of Lemongrass and Oregano essential oil against standard antibiotic resistant

Staphylococcus aureus and field isolates from chronic mastitis cow. **International Journal of Phytomedicine** *, 4* (1), 134-139.

Dang, C. N., Prasad, Y. D., Boulton, A. J. & Jude, E. B. (2003). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the diabetic foot clinic: a worsening problem. **Diabet Med** *, 20* (2), 61-159.

Kassam, N. A., Damian, D. J., Kajeguka, D., Nyombi, B. & Kibiki, G. S. (n.d.). **Spectrum and antibiogram of bacteria isolated from patients presenting with infected wounds in a Tertiary Hospital**, northern Tanzania.

Lertsatitthanakorn, P., Aromdee, C. & Khunkitti, W. (2013). Formulation optimization of citronella grass oil solid lipid particles using mixture design. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** *, 5* (3), 396-402.

Mallepally, R. R. (2009). **Encapsulation and Controlled Release of Pharmaceuticals with Biodegradable Hyperbranched Polyesters**. Germany: University of Erlangen-Nuremberg.

Mehnert, W. & Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews** , *47* (2-3), 165-196.

Milanovic, J., Manojlovic, V., Levic, S., Rajic, N., Nedovic, V. & Bugarski, B. (2010). Microencapsulation of flavors in carnauba wax. **Sensors** *(Basel) , 10* (1), 901-912.

Naik, M. I., Fomda, B. A., Jaykumar, E. & Bhat, J. A. (2010). Antibacterial activity of lemongrass (Cymbopogon citratus) oil against some selected pathogenic bacterias. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** *, 3* (7), 535-538.

Pan, Y., Sun, S.-L., Cheng, Q., Celikbag, Y., Via, B., Wang, X. & Sun, R. (2014). Technical Note: Melt Dispersion Technique for the Preparation of Paraffin Wax Microspheres for Cellulose Encapsulation. Wood and fiber science: **journal of the Society of Wood Science and Technology** , *46* (4). 1-6.

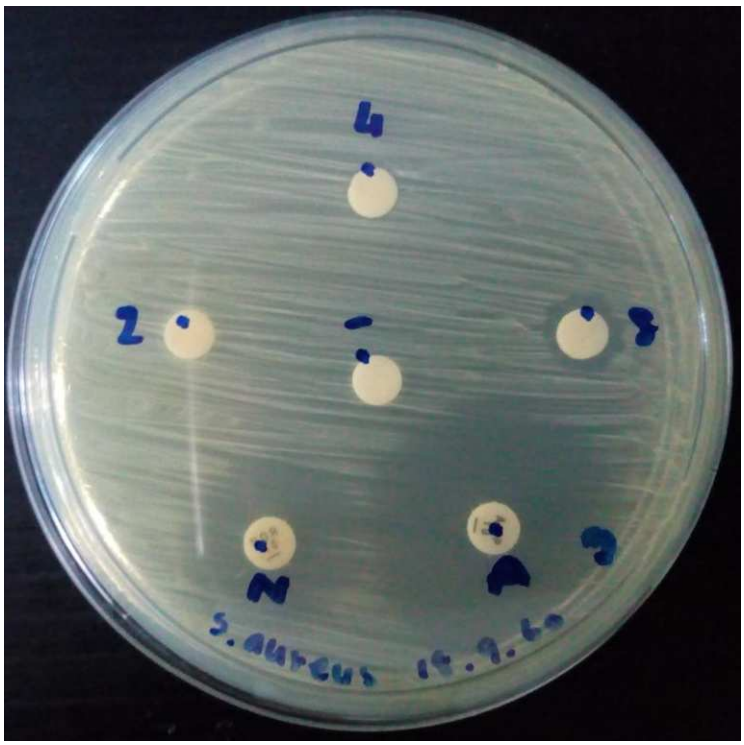
Pithayanukul, P., Tubprasert, J. & Wuthi-Udomlert, M. (2007). In vitro antimicrobial activity of *Zingiber cassumunar* (Plai) oil and a 5% Plai oil gel. **Phytother Res** *, 21* (2), 9-164.

Srirachawadi, S., Patamaporn, S. & Acharawan, T. (2017). In vitro investigate antimicrobial activity of essential oils against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). **Bulletin of Health, Science and Technology** *, 15* (2), 63-70.

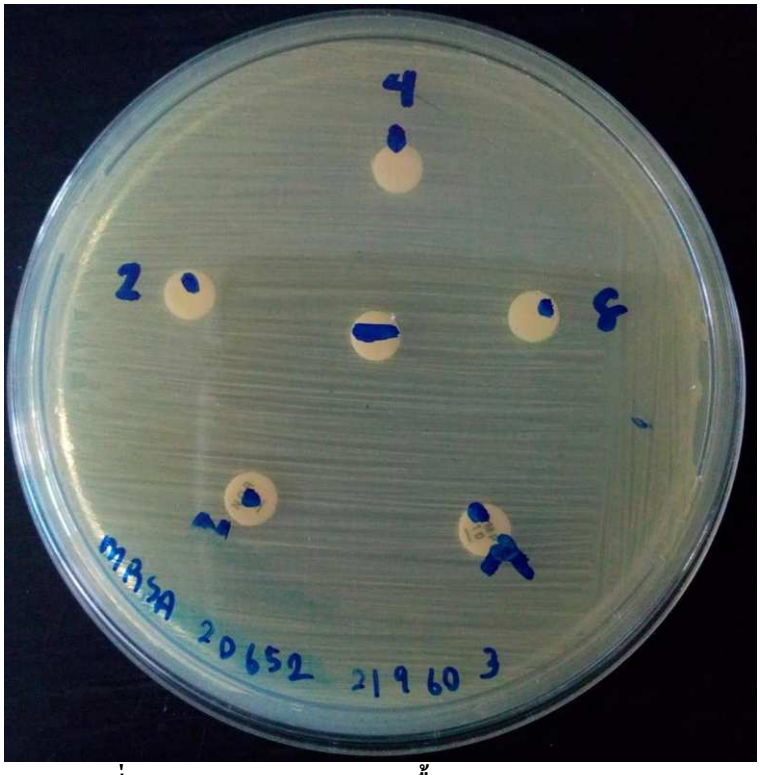
Tiyaboonchai, W. (2007). Efficacy and safety of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles facial cream as an anti-aging agent. **Naresuan University Journal** , 73-81.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disk diffusion (แสดงการเกิด Inhibition zone)

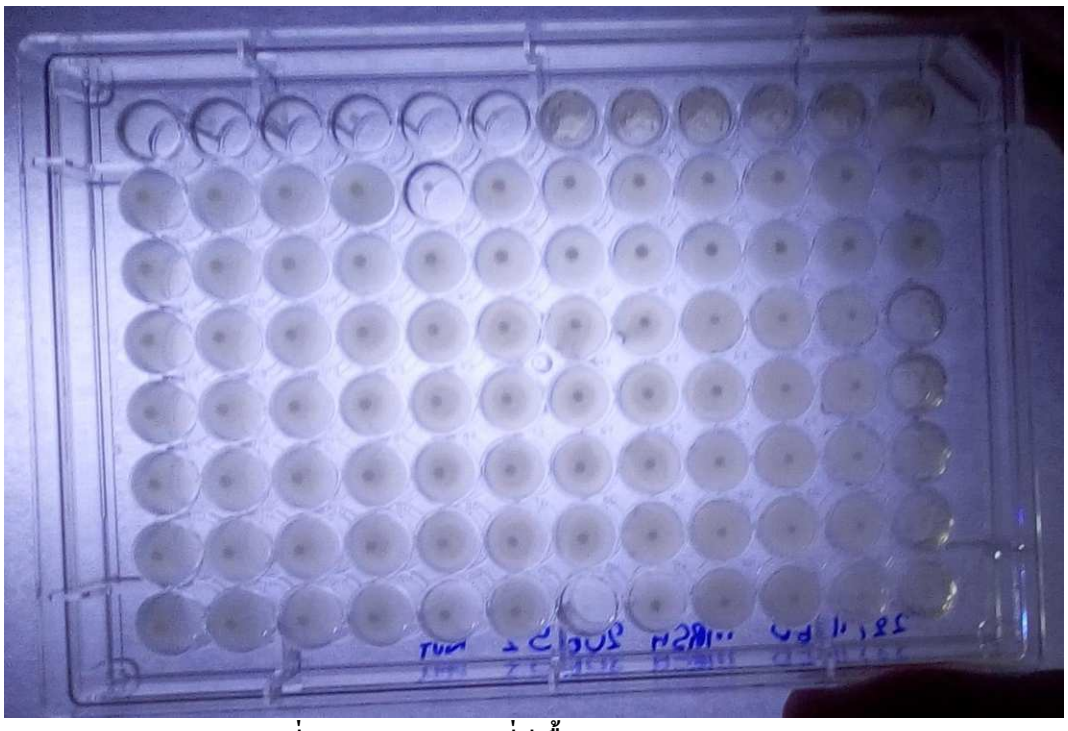


ภาพที่ 10 Inhibition zone ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840

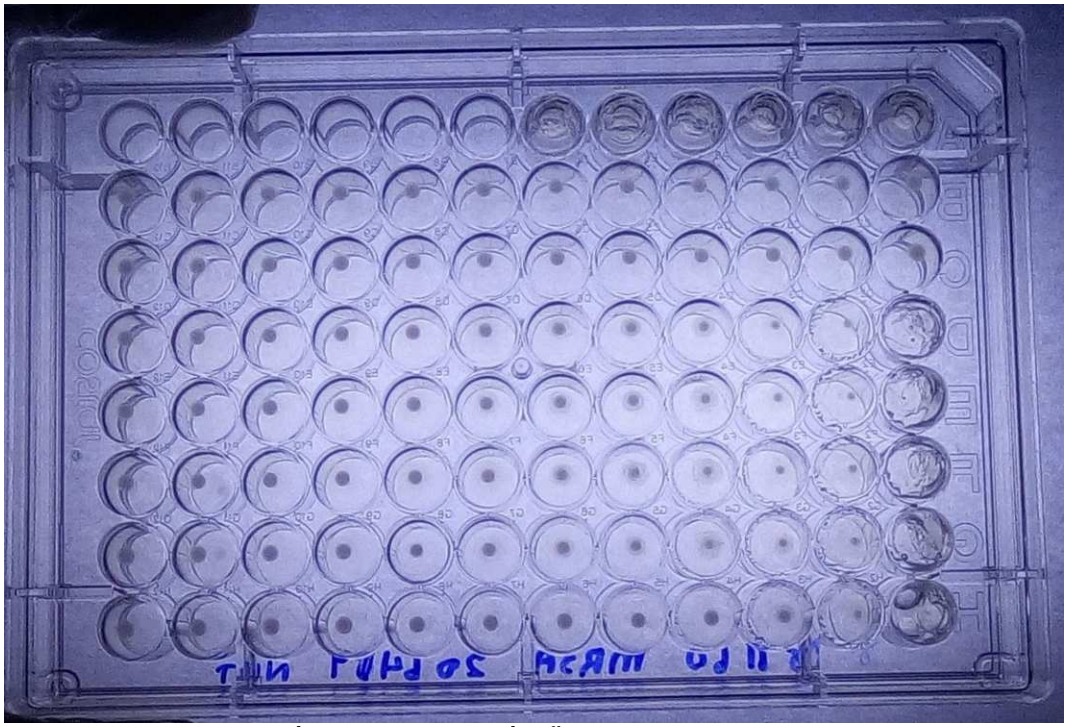


ภาพที่ 11 Inhibition zone ของเชื้อ MRSA DMST 20652

ภาคผนวก ข
ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
โดยวิธี Broth microdilution (แสดงการเกิด MIC)



ภาพที่ 12 Well 96 หลุมที่มีเชื้อ MRSA DMST 20652



ภาพที่ 13 Well 96 หลุมที่มีเชื้อ MRSA DMST 20649

ภาคผนวก ค
หนังสือตอบรับบทความ

International Conference of Pharmaceutical Sciences and Medicines 2018 (ICPAM 2018)

Letter of Acceptance

June 30th, 2018

Dear Mr. Nuttanan Charounlertdajkul,

Proceeding Title; Development of *Zingiber cassumunar* Roxb. essential oil solid lipid particles for use as antibacterials against wound causing bacteria ,

On behalf of the organizing committees, we are now pleased to inform you that your proceeding has been accepted for poster presentation (Number 006), at the ICPAM 2018 conference in Chonburi, Thailand on August 3rd, 2018. Please see the website of the conference for additional details regarding the presentation preparation and guidelines. Thank you very much for your kind participation and cooperation. We look forward to seeing you at the conference. Please do not hesitate to contact us, if you need any assistance.

Sincerely Yours,

B. Vongsak

Asst. Prof. Dr. Boonyadist Vongsak

Chairperson of ICPAM 2018

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – นามสกุล	นายณัฐนันท์ เจริญเลิศเดชกุล
วันเดือนปีเกิด	27 กันยายน 2536
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	192/1 ตรอกสะพานยาว แขวงสี่พระยา เขตบางรักจังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10500
ประวัติการศึกษา	
	พ.ศ. 2549 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมต้นและปลายโรงเรียนเทพศิรินทร์ กรุงเทพมหานคร
	พ.ศ. 2559 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี พท.บ.(แพทย์แผนไทยบัณฑิต)มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	แพทย์แผนไทย ปฏิบัติการช่อชงโคคลินิกการแพทย์แผนไทย (ลูกจ้างชั่วคราว)
	ผู้ช่วยวิจัยโครงการ “การพัฒนาครีมนวดเท้าน้ำมันไพลในรูปไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพื่อบรรเทาอาการปลายประสาทอักเสบในผู้ป่วยเบาหวาน” ซึ่งรับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ปีงบประมาณ 2560 - 2561