ประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp.

เอวิภา งามอุส่าห์ และบัญญัติ สุขศรีงาม

Antimicrobial of some spices and medicinal plants on *Shigella* spp.

Avipha Ngamusa and Bunyut Suksringam

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรต่อการเจริญของ *Shigella* spp. โดยใช้เครื่องเทศและสมุนไพร 16 ชนิดผสมในอาหาร Mueller-Hinton agar เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ทั้งหมด 4 ชนิด จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. dysenteriae* type 2 49/03, *S. flexneri* type 2a DMST 17559, *S. flexneri* type 3a DMST 17560, *S. boydii* type 12 53/03, *S. sonnei* phase I 110/03 และ *S. sonnei* phase II DMST 17561 พบว่า กานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพราและสะระแหน่ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ได้ และเมื่อหาค่า MIC ของกานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพราและ สะระแหน่ โดยใช้วิธี agar dilution method พบว่าค่า MIC อยู่ในช่วง 0.25-1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องเทศและสมุนไพร ชนิดและสายพันธุ์ของ *Shigella* ที่นำมาทดสอบ เมื่อศึกษาปัจจัยด้าน pH (3, 3.5, 4, 4.5 และ 5) และความเข้มข้นของ NaCl (0, 1, 2, 3 และ 4%) ต่อประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพร ซึ่งได้เลือกกานพลู และพริกไทยมาทดสอบ เนื่องจากว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยได้ผสมกานพลูหรือพริกไทยเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร MH agar เพื่อพิสูจน์ว่าปัจจัยต่าง ๆ มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. หรือไม่ พบว่ากานพลูและพริกไทยยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ได้ทุกสภาวะที่ทดสอบ โดยในอาหารที่ไม่ได้ผสมกานพลูและพริกไทย (ชุดควบคุม) จะมีเชื้อเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 4.5 เท่านั้นและมีเชื้อเจริญได้ในที่มี NaCl เข้มข้น 0, 1 และ 2% ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาทดสอบและเมื่อนำผลการศึกษานี้ไปทดสอบในอาหาร โดยผสมกานพลูหรือพริกไทยในน้ำสลัด จากนั้นใส่ *Shigella* spp. เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส(อุณหภูมิแช่เย็น) และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวน *Shigella* spp. ที่ใส่ในน้ำสลัดและชุดควบคุมที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นในวันแรกของการทดลอง โดยตรวจ

ไม่พบเชื้อในน้ำสลัดภายหลังจากที่เก็บรักษาไว้นาน 1 วัน แสดงให้เห็นว่ากานพลูและพริกไทยที่ผสมในน้ำสลัดไม่มีผลต่อการเจริญของ *Shigella* spp. เนื่องจากจำนวนของ *Shigella* spp. ลดลงทั้งในน้ำสลัดที่ผสมและไม่ผสมกานพลูและพริกไทย

Abstract

The antimicrobial activity of 16 spices and medicinal plants against *Shigella* spp. was determined. Spices or medicinal plants, at the concentration 1% (wt/vol), was incorporated into Mueller-Hinton(MH) agar. The *Shigella* tester strains were *S. dysenteriae* type 2 49/03, *S. flexneri* type 2a DMST 17559, *S. flexneri* type 3a DMST 17560, *S. boydii* type 12 53/03, *S. sonnei* phase I 110/03, and *S. sonnei* phase II DMST 17561. It was found that clove, pepper, hairy basil, sweet basil, holy basil, and kitchen mint demonstrated the inhibitory effect on *Shigella* spp. According to agar dilution method, the minimum inhibition concentrations (MICs) of these plants ranged from 0.25-1% depending on the plant species as well as *Shigella* strains. Clove and pepper, which showed the highest antibacterial potency, were selected for further investigation. It was established that when clove or pepper (1% wt/vol) was added into MH agar, which was adjusted to various pH values (3.0, 3.5, 4.0, 4.5 and 5.0) and containing NaCl at various concentration (0, 1, 2, 3 and 4%) , significant inhibition of *Shigella* spp. in all growth conditions was observed. However, the growth of *Shigella* spp. in the control experiment was demonstrated on the medium containing NaCl at the concentrations 0, 1 and 2% with the pH 5.5 and 4.5. The results of an orientation study involving the addition of clove or pepper into salad cream, which inoculated with *Shigella* spp., and subsequently stored at 4°C as well as 25°C, indicated no significant adverse affect on the survival of bacteria. Rapid reduction in numbers of the *Shigella* spp. was illucidated, and no evidence of this bacterium was found in both the treatments and control after 1 day of incubation.

บทนำ

ในประเทศที่กำลังพัฒนามักจะประสบปัญหาทางด้านสาธารณสุข ด้วยสาเหตุของโรคบิด (Shigellosis หรือ bacillary dysentery) ซึ่งเป็นโรคอุจจาระร่วงที่มีสาเหตุมาจากเชื้อในกลุ่ม *Shigella* ทำให้เกิดการปวดท้อง อุจจาระร่วงอย่างรุนแรง และถ่ายเป็นมูกเลือด ทั้งนี้อาจจะมีสาเหตุมาจากการรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อ *Shigella* spp. ปนเปื้อนอยู่ โดยเชื้อจะไปเจริญในบริเวณ

เยื่อบุลำไส้ทำให้เยื่อบุลำไส้เป็นแผลอักเสบ มีเลือดออก สาเหตุของอาการอุจจาระร่วงอาจมีผลมาจากเอ็นโดท็อกซินของ *Shigella* นั่นเอง ซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ (อรุณ และคณะ, 2540)

การระบาดของโรคบิดในประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 เป็นต้นมา อัตราการเกิดโรคบิดในปี พ.ศ.2513 มีเพียง 13 ราย ต่อประชากร 1 แสนคน แต่ในปี พ.ศ. 2525, 2527- 2530 อัตราการเกิดโรคบิดเพิ่มขึ้นเป็น 67,113,126,155 และ 248 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน ตามลำดับ ส่วนประเทศที่กำลังพัฒนาบางประเทศ เช่น อินเดีย บังคลาเทศ พม่า ลาว ตลอดจนประเทศไทยพบว่ามีการระบาดของ *Shigella* บางพื้นที่ในอัตราสูง ซึ่งจะพบโรคนี้ในเด็กเล็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี เนื่องจากประเทศเหล่านี้ยังขาดระบบสาธารณสุขที่ดี (อรุณและคณะ, 2540)

Shigella สามารถเจริญได้ในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหลาย มักจะไม่พบ *Shigella* ในสัตว์ประเภทอื่น บ่อยครั้งที่ตรวจพบเชื้อนี้ในลำไส้ของผู้ป่วยที่เพิ่งหายจากโรคบิดใหม่ ๆ ทำให้ผู้ที่เป็นพาหะเป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญพอ ๆ กับน้ำและอาหารที่ไม่สะอาด *Shigella* สามารถติดต่อได้โดยผ่านระบบทางเดินอาหาร (faecal-oral route) อาหารที่มักพบว่ามี *Shigella* ปนเปื้อนอยู่ด้วย ได้แก่ สลัด น้ำซุป ซอสและแซนวิช (Bagamboula และคณะ, 2003) แม้ว่าส่วนประกอบของอาหารจะสะอาด แต่แบคทีเรียอาจปนเปื้อนในระหว่างการเตรียมและการปรุงอาหารด้วยมือหรือภาชนะที่ไม่สะอาด แบคทีเรียจะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ในอาหารเมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิเหมาะสม จนทำให้ผู้บริโภคมีอาการของโรคอาหารเป็นพิษได้ (สุมณฑา, 2537) คนสมัยโบราณได้พยายามแก้ปัญหานี้ด้วยหลาย ๆ วิธีการ แต่วิธีหนึ่งที่ใช้กันมานานได้แก่การนำเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดมาใช้เพื่อการปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารและถนอมอาหารไม่ให้เน่าเสีย (นิจศิริ 2534 และบัญญัติ 2518) ในปัจจุบันก็ยังมีการนำเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดมาใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารหลายชนิด เช่น สลัด น้ำซุป ซอส ฯลฯ เครื่องเทศและสมุนไพรดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญหรือลดจำนวนของ *Shigella* ที่ปนเปื้อนมาในอาหารได้ (Bagamboula และคณะ, 2003)

เครื่องเทศที่มีน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil) อยู่ด้วยมีสรรพคุณในการขับลมทำให้ลำไส้ทำงานเป็นปกติ ช่วยกระตุ้นให้ต่อมน้ำลายทำงานทำให้เจริญอาหาร นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี ดังนั้นเครื่องเทศบางชนิดจึงเป็นส่วนผสมในตำรับยาที่เกี่ยวกับโรคทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ (สุพจน์, 2537) และจากการที่เครื่องเทศมีน้ำมันหอมระเหยช่วยฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการบูดเน่าและช่วยกระตุ้นให้เกิดการย่อยอาหารจึงนำมาใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นและรสอาหารและดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ ในสมัยโบราณมักจะใช้เครื่องเทศในการคงสภาพความสด คือช่วยถนอมอาหารให้อยู่ได้นาน เครื่องเทศมีสรรพคุณทางเคมีและยา สามารถรักษาได้ทั้งโรคที่เกิดภายนอกร่างกาย เช่น โรคผิวหนังและโรคที่เกิดภายในร่างกาย เช่น โรคระบบทางเดินอาหาร ในปัจจุบันเครื่องเทศถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมและยาฆ่าแมลง ซึ่งวงการแพทย์ต่างก็ให้การยอมรับในเรื่องความปลอดภัยที่มีมากกว่าการใช้สารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดผลต่อสุขภาพในระยะยาว

เครื่องเทศยังจัดเป็นพืชสมุนไพรประเภทหนึ่งที่มีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับผู้ที่ต้องการนำมาใช้ป้องกันและรักษาโรคด้วยวิถีธรรมชาติ (สุพจน์, 2537)

ด้วยเหตุที่เครื่องเทศและสมุนไพรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงน่าที่จะศึกษาถึงความเป็นไปได้ของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* และศึกษาปัจจัยที่อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้เพื่อเป็นแนวทางในการนำเครื่องเทศและสมุนไพรเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญ *Shigella* ที่อาจปนเปื้อนมาในอาหาร อันจะทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยจากการรับประทานอาหารมากยิ่งขึ้นด้วย

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Shigella* spp. 4 ชนิด จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากกองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดังนี้

1.1 *S. dysenteriae* type 2 49/03

1.2 *S. flexneri* type 2a DMST 17559

1.3 *S. flexneri* type 3a DMST 17560

1.4 *S. boydii* type 12 53/03

1.5 *S. sonnei* phase I 110/03

1.6 *S. sonnei* phase II DMST 17561

2. สมุนไพรและเครื่องเทศ

สมุนไพรและเครื่องเทศที่ใช้ทดสอบ จำนวน 16 ชนิด ได้มาจากตลาดสดและร้านจำหน่ายเครื่องยาไทยในตำบลแสนสุข อำเภอเมือง ชลบุรี ดังนี้

1.1 ราก ได้แก่ กระชาย (*Boesenbergia pandurata* Schlecht.)

1.2 ใบ ได้แก่ กระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) แมงลัก (*Ocimum canum* L.) สาระแหน่ (*Mentha arvensis* L.) และโหระพา (Ocimum basilicum L.)

1.3 ดอก ได้แก่ กานพลู (*Eugenia aromatica* Baill หรือ *E. caryophyllata* Thumb.)

1.4 ผล ได้แก่ พริกไทย (*Piper nigrum* L.) พริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) พริกชี้ฟ้า(*Capsicum frutescens* var. *longum*)และโป๊ยกั๊ก (*Illicum verum* L .)

1.5 ลำต้นและใบ ได้แก่ ผักชี (*Coriandrum sativum* L.) และคื่นฉ่าย (*Apium graveolens* Linn.)

1.6 ลำต้น ได้แก่ ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.)

1.7 ลำต้นใต้ดิน ได้แก่ ข่า (*Languas galanga* (L.) Stuntz.) และขิง (*Zingiber officinale* Rose.)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 Enrichment media

1) Muller-Hinton (MH) agar
2) Muller-Hinton (MH) broth
3) Brain heart infusion (BHI) broth
4) Nutrient agar (NA)

3.1.2 Selective media

1) Hektoen enteric agar

3.2 สารเคมี

1) Tween 20

วิธีการทดลอง

1. การเตรียม **stock culture** และ **inoculum**

1.1 สำหรับ stock culture ของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบทั้งหมด เพาะเลี้ยงใน nutrient agar slant และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2 inoculum เตรียมโดยการถ่ายเชื้อจาก stock culture 1 loop ใส่ลงใน BHI broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. การเตรียมเครื่องเทศและสมุนไพร

2.1 นำเครื่องเทศและสมุนไพรที่ใช้ทดสอบทั้งหมดมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออกแยกส่วนที่ต้องการใช้ได้แก่ ส่วนลำต้นเหนือดิน ราก เปลือก ใบ ผลหรือเมล็ดมาล้างทำความสะอาด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส แล้วบดให้เป็นผง

3. การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ ***Shigella*** และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด **(MICs)** ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ ***Shigella***

3.1 นำเครื่องเทศหรือสมุนไพรแห้งผสมลงใน MH broth หรือ MH agar ให้มีความเข้มข้นของเครื่องเทศหรือสมุนไพร 1% (w/v) และเติม Tween 20 ลงในอาหารทั้ง 2 ชนิดให้มีความเข้มข้น 2.5% (w/v) หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (สำหรับ MH agar เทใส่จานเพาะเชื้อ ส่วน MH broth ใส่หลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

3.2 เตรียมแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบโดยนำแบคทีเรียที่ทดลองแต่ละชนิดจำนวน 1 loop ใส่ลงในอาหารเหลว BHI broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำให้เจือจางเป็น 10^2-10^3 CFU/ml (คำนวณปริมาณเชื้อโดยคิดเทียบกับค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร) เพื่อใช้ทดสอบใน MH agar และ MH broth สำหรับ MH agar ใส่เชื้อทดสอบจำนวน 0.1 มิลลิลิตร และMH broth ใส่เชื้อทดสอบจำนวน 1 มิลลิลิตร โดยแต่ละการทดลองให้ทำ 3 ซ้ำ

3.3 สำหรับการอ่านผลความขุ่นของ MH broth ให้อ่านเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อลงไป สำหรับ MH agar อ่านผลการเจริญเป็นโคโลนีบน MH agar ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.4 ส่วนการหาค่า MICs ของเครื่องเทศและสมุนไพรใน MH broth ใช้ความเข้มข้นของสมุนไพรเป็น 1, 2, 5, และ 10% ส่วนใน MH agar ใช้ความเข้มข้นของสมุนไพรเป็น 0.10, 0.25, 0.50 และ 1% โดยทดสอบเช่นเดียวกับวิธีที่กล่าวมาข้างต้น และตรวจสอบการเจริญของ *Shigella* ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4. ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของ ***Shigella* spp.** ด้วยวิธี **MH agar model hurdle system**

4.1 ผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรที่ต้องการทดสอบ 1% ลงใน MH agar แล้วเติม Tween 20 ให้มีความเข้มข้น 2.5% และใช้อาหารที่ไม่ผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรเป็นตัวควบคุม หลังจากนั้นปรับ pH อาหารให้เป็น 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0 ด้วย 2 N. HCl แล้วปรับความเข้มข้นของ NaCl ให้เป็น 0, 1, 2, 3 และ 4% ก่อนที่จะนำไปทำให้ปราศจากเชื้อ หลังจากนั้นเทใส่จานเพาะเชื้อ

4.2 นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเจือจางให้ได้จำนวนเซลล์ 10^2-10^3 CFU/ml แล้ว spread ลงบนอาหารในจานเพาะเชื้อดังกล่าว บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

5. การศึกษาผลการต้านจุลชีพของเครื่องเทศและสมุนไพร ต่อ ***Shigella* spp.** ในน้ำสลัด

5.1 นำน้ำสลัดที่ซื้อมาจากร้านจำหน่ายไปชั่งจำนวน 100 กรัมใส่ลงในถุงพลาสติกแล้วผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรที่ต้องการทดสอบโดยใช้ความเข้มข้น 1% และใช้น้ำสลัดที่ไม่ได้ผสม

เครื่องเทศหรือสมุนไพรเป็นตัวควบคุม แล้วเติม *Shigella* spp. จำนวน 2 มิลลิลิตร (จากเชื้อที่มีอายุ 24-48 ชั่วโมงในอาหาร BHI broth) ต่อน้ำสลัด 100 กรัม บ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน

5.2 ในช่วงระหว่างการบ่มเชื้อดังกล่าวให้แบ่งตัวอย่าง 10 กรัม ของวันที่ 0, 1, 4, ,12 และ 16 มาทดสอบโดยเจือจางให้เป็น 10 เท่า ด้วย peptone water เข้มข้น 0.1% และนำสารละลายที่เจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร มาspread บน Hektoen enteric agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี

5.3 วัด pH และ a_wของอาหารควบคุมที่ไม่ได้เติมเชื้อทดสอบและทุกตัวอย่างทดสอบ ตั้งแต่วันเริ่มต้นจนครบ 16 วัน สำหรับ pH ให้ใช้ Ingold electrode ต่อกับ pH meter เป็นเครื่องวัด ส่วนค่า a_w วัดโดยใช้เครื่อง a_w Kryometer

ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรเข้มข้น 1% ทั้งหมด 16 ชนิดได้แก่ กระชาย กะเพรา กานพลู ข่า ขิง คื่นฉ่าย ตะไคร้ โป๊ยกั๊ก ผักชี พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกไทย มะกรูด แมงลัก สะระแหน่และโหระพา ในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. 4 ชนิด จำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้จากกองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดังนี้ *S.* dysenteriae type 2, *S. flexneri* type 2a, *S. flexneri* type 3a, *S. boydii* type 12, *S. sonnei* phase I และ *S. sonnei* phase II เมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรด้วยวิธี agar dilution method พบว่ากานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* โดยสามารถยับยั้งได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ส่วนพริกไทย แมงลักและโหระพามีประสิทธิภาพรองลงมาโดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ 4 สายพันธุ์ คือ *S. flexneri* type 2a , *S. flexneri* type3a , *S. sonnei* phase I และ *S. sonnei* phase II ส่วนกะเพราและสะระแหน่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ 2 สายพันธุ์ คือ *S. flexneri* type 2a และ *S. flexneri* type (ตารางที่ 1) แต่เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรด้วยวิธี broth dilution method พบว่าไม่มีสมุนไพรชนิดใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp.ได้ เมื่อหาค่า MIC โดยวิธี agar dilution method พบว่าค่า MIC อยู่ในช่วง 0.25-1% และวิธี broth dilution method ได้ค่า MIC อยู่ในช่วง 2->10 % ค่า MIC ที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องเทศและสมุนไพร ชนิดและสายพันธุ์ของ *Shigella* เมื่อศึกษาปัจจัยด้าน pH (3, 3.5, 4, 4.5 และ 5) และความเข้มข้น ของ NaCl (0, 1, 2, 3 และ 4%) ต่อประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพร ซึ่งได้เลือกกานพลูและพริกไทยมาทดสอบ เนื่องจากว่ามีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ทดลอง จากการศึกษาพบว่ากานพลูและพริกไทยยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ได้ทุกสภาวะที่ทดสอบ โดยในอาหารที่ไม่ได้ผสมกานพลูและพริกไทย (ชุดควบคุม) จะมีเชื้อเจริญได้ที่ pH 4.5 และ 5 เท่านั้นและมี

เชื้อเจริญได้ในที่มี NaCl เข้มข้น 0, 1 และ 2% ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาทดสอบ และเมื่อนำผลการศึกษาไปทดสอบในอาหารโดยผสมกานพลูและพริกไทยในน้ำสลัด พบว่าจำนวน *Shigella* spp. ที่ใส่ในน้ำสลัดและชุดควบคุมที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นในวันแรกของการทดลอง โดยตรวจไม่พบเชื้อในน้ำสลัดภายหลังจากที่เก็บรักษาไว้นาน 1 วัน

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ในอาหาร Muller-Hinton (MH) agar

เครื่องเทศและสมุนไพรที่ใช้ทดสอบ	*S. sonnei* phase I	*S. sonnei* phase II	*S. flexneri* type 3a	*S. flexneri* type 2a	*S. boydii* type 12	*S. dysenteriae* type 2
1. กระชาย	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2. กะเพรา	++	++	-	-	+++	+++
3. กานพลู	-	-	-	-	-	-
4. ข่า	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5. ขิง	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6. คื่นฉ่าย	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7. ตะไคร้	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8. โป๊ยกั๊ก	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9. ผักชี	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10. พริกขี้หนู	+++	+++	+++	+++	+++	+++
11. พริกชี้ฟ้า	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12. พริกไทย	-	-	-	-	+++	+++
13. มะกรูด	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14. แมงลัก	-	-	-	-	+++	+++
15. สะระแหน่	++	++	-	-	+++	+++
16. โหระพา	-	-	-	-	+++	+++

+++ หมายถึงมีเชื้อเจริญหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา **24** ชั่วโมง

++ หมายถึงมีเชื้อเจริญหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา **24** ชั่วโมง แต่มีจำนวนน้อยกว่าชุดควบคุม

\- หมายถึงไม่มีเชื้อเจริญหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา **24** ชั่วโมง

อภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ ***Shigella***

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรเข้มข้น 1% ทั้งหมด 16 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. 4 ชนิด จำนวน 6 สายพันธุ์ ด้วยวิธี agar dilution method พบว่าเครื่องเทศและสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ ได้แก่ กานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพรา และสะระแหน่ โดยกานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bagamboula และคณะ (2003); Hammer และคณะ (1999); Smith-Palmer และคณะ (1998); บัญญัติ (2522) การที่กานพลูยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้เนื่องจากมียูจีนอล (eugenol) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบมากในกานพลู (Dorman and Deans, 2000) ซึ่งยูจีนอลไปขัดขวางขบวนการละลายของชั้นไขมันที่เซลล์เมมเบรน เป็นผลให้บทบาททางด้านออสโมติกแบร์ริเออร์ (osmotic barrier) ของเซลล์เมมเบรนลดลงและขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่น ๆ ในเซลล์รวมตัวกัน เซลล์จึงถูกทำลาย (บัญญัติ, 2522)

ส่วนเครื่องเทศและสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ พริกไทย แมงลักและโหระพา โดยยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ 4 สายพันธุ์ คือ *S. flexneri* type 2a, *S. flexneri* type 3a , *S. sonnei* phase I และ *S. sonnei* phase II ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Bagamboula และคณะ (2003); Hammer และคณะ (1999); Smith-Palmer และคณะ (1998); อนุวัฒน์ (2544) การที่พริกไทยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย (Dorman and Deans 2000)และในน้ำมันหอมระเหยของพริกไทยมีสารไปเปอรีน(piperine) ไลนาลูออล(linalool)และอัลฟา-เทอไปนีออล (α-terpineol) (บัญญัติ, 2527) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้ดี (Dorman and Deans, 2000) จึงทำให้พริกไทยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ ส่วนโหระพายับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยอยู่ด้วย (Simon *et al*, 1990)และในน้ำมันหอมระเหยของโหระพามีสารไลนาลูออลและเมธิล คาวิคอล (methyl chavicol) (Wan *et al*, 1998) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (Bagamboula *et al*, 2003)จึงทำให้โหระพามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ การที่แมงลักยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Simon และคณะ (1990) และในน้ำมันหอมระเหยของแมงลักมีสารการบรู เมทิลซินนาเมท (methyl cinnamate) ไลนาลูออลและลิโมนีน (limonene) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (Simon *et al*, 1990) จึงทำให้แมงลักมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้เช่นกัน

ส่วนกะเพราและสะระแหน่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดโดยยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ 2 สายพันธุ์ คือ *S. flexneri* type 2a และ *S. flexneri* type 3a ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Hammer และคณะ

(1999) ; Smith-Palmer และคณะ (1998); อนุวัฒน์ (2544); บัญญัติ (2522) การที่กะเพรายับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Simon และคณะ (1990) และมีรายงานว่าในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรามีสารยูจีนอล เมทธิลยูจีนอล(methyl eugenol)และเบต้า-แคริโอฟีลลีน (β-caryophyllene) (Simon *et al*, 1990) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (บัญญัติ, 2522) จึงทำให้กะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้เช่นกัน ส่วนสะระแหน่ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของบัญญัติ (2530) ในน้ำมันหอมระเหยของสะระแหน่มีสารอัลฟา – ไปนีน (α - pinene) เมนทอล (menthol) ลิโมนีนและนีโอเมนทอล (neomenthol) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (บัญญัติ 2530) จึงทำให้สะระแหน่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ ของ *Shigella* ได้

2. การหาความเข้มข้นต่ำสุด (MICs)ของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ ***Shigella* spp.**

เมื่อหาค่า MIC ของกานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพราและสะระแหน่ โดยใช้วิธี gar dilution method พบว่าค่า MIC อยู่ในช่วง 0.25-1 เปอร์เซ็นต์ และวิธี broth dilution method ได้ค่า MIC อยู่ในช่วง 2-10 เปอร์เซ็นต์ ค่า MIC ที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องเทศและสมุนไพร ชนิดและสายพันธุ์ของ *Shigella* ที่นำมาทดสอบ(Bagamboula *et al*.,2003) จากการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ด้วยวิธี agar dilution method และวิธี broth dilution method พบว่าผลการทดลองจากทั้ง 2 วิธีได้ค่า MIC แตกต่างกัน ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Bagamboula และคณะ(2003)ที่พบว่าค่า MIC ที่ได้จากวิธี agar dilution method จะแตกต่างจากวิธี broth dilution method กล่าวคือ Bagamboula และคณะ(2003) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพร 17 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. พบว่าค่า MICs ที่ได้จากวิธี agar dilution method มีค่าแตกต่างจากวิธี broth dilution method ดังนี้คือค่า MICs ของโหระพาที่ได้จากวิธี agar dilution method มีค่าเท่ากับ 1% ในการยับยั้งการเจริญของ *S. sonnei* CIP 82.49,*S. sonnei* strain 1 และ *S. flexneri* strain 6 ส่วนค่า MIC ที่หาได้จากวิธี broth dilution มีค่าเท่ากับ 10% ในการยับยั้ง การเจริญของ *S. flexneri* strain 6 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ใช้ในการทดสอบมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของเครื่องเทศและสมุนไพร

3. การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของ ***Shigella*** **spp.** ด้วยวิธี **MH agar model hurdle system**

เนื่องจากกานพลูและพริกไทยเป็นสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จึงเลือกกานพลูและพริกไทยไปศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. โดยใช้วิธี MH agar model hurdel system ในการทดลองนี้ได้ศึกษาปัจจัยด้าน pH (3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0) และความเข้มข้นของ NaCl (0, 1, 2, 3 และ 4%) ต่อประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพร จากการทดลองพบว่า ในชุดควบคุมมีเชื้อเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 4.5 และในที่มี NaCl เข้มข้น 0, 1 และ 2% ส่วนในอาหารที่ผสมกานพลูหรือพริกไทย พบว่าไม่มีเชื้อเจริญในทุกการทดสอบ แสดงว่า pH และความเข้มข้นของ NaCl มีผลต่อการเจริญของ *Shigella* กล่าวคือ ถ้าปรับ pH ให้ลดลงตั้งแต่ pH 4 ลงมาจะทำให้ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp.ได้และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaCl ให้สูงขึ้น จะส่งผลให้ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp.ได้เช่นเดียวกัน ผลการทดลองนี้ใกล้เคียงกับรายงานของ Bagamboula และคณะ(2003) มีรายงานว่า *Shigella* มี minimum pH ประมาณ 4.8 (http://www.cfsan.fda.gov/~comm/haccp4×4.html,2001) และมี maximum NaCl ประมาณ5.2% (http://www.cfsan.fda.gov/~comm/haccp4×4.html,2001) ด้วยเหตุนี้ในการทดลองจึงพบว่าไม่มี *Shigella* เจริญได้ที่ pH 3.0, 3.5 และ 4.0 และการเพิ่มความเข้มข้นของ NaCl ให้สูงขึ้นจะส่งผลให้ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ได้ดีขึ้นด้วย

4. การศึกษาประสิทธิภาพของกานพลูและพริกไทยในการยับยั้งการเจริญของ ***Shigella*** **spp.** ในน้ำสลัด

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของกานพลูและพริกไทยในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ในน้ำสลัด ซึ่งเป็นการนำผลการศึกษาข้างต้นไปทดลองในอาหาร จากการทดลอง พบว่าจำนวน *Shigella* spp. ที่ใส่ในน้ำสลัด(ทั้งที่มีการผสมและไม่ผสมกานพลูและพริกไทย) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นในวันแรกของการทดลอง โดยตรวจไม่พบเชื้อในน้ำสลัดภายหลังจากเก็บรักษาไว้นาน 1 วัน โดยในระหว่างการทดลองวัด pH ของน้ำสลัดได้ 3.78$\pm$0.01 และวัด a_wได้ 0.839$\pm$0.01 ซึ่งมีการรายงานว่า *Shigella* มี minimum pH ประมาณ 4.8 (http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ haccp4×4.html, 2001) และ minimum a_w ประมาณ 0.95 (http://www.ag.iastate.edu/departments/ foodsci/classes/ fshn420/fbi_*Shigella*.html, 2003) ด้วยเหตุนี้การลดปริมาณของ *Shigella* ในน้ำสลัดจึงอาจมีสาเหตุมาจาก pH และ a_w ของน้ำสลัด เนื่องจากที่สภาวะนี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Shigella* จากผลการศึกษาแสดงว่ากานพลูและพริกไทยที่ผสมในน้ำสลัดไม่มีผลต่อการเจริญของ *Shigella* spp. เนื่องจากจำนวนของ *Shigella* spp. ลดลงทั้งในกลุ่มควบคุมและในน้ำสลัดที่ผสมกานพลูและพริกไทย

จากการทดลองพบว่า กานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพราและสะระแหน่ มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ และปัจจัยด้าน pH ความเข้มข้นของ NaCl และ a_w มีผลต่อการเจริญของ *Shigella* ดังนั้นในการนำเครื่องเทศหรือสมุนไพรเหล่านี้ไปใช้ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ที่อาจปนเปื้อนมาในอาหารจะต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของอาหารด้วย กล่าวคือ ถ้าอาหารมี pH ความเข้มข้นของ NaCl และ/หรือ a_w ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Shigella* ก็ไม่จำเป็นต้องผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรในอาหาร เนื่องจากว่าปัจจัยดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ แต่สำหรับอาหารที่มีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญของ *Shigella* ก็ควรจะผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรเหล่านี้ลงไปเพื่อยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ที่อาจปนเปื้อนมาในอาหาร อันจะทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยจากการรับประทานอาหารมากยิ่งขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามการเติมเครื่องเทศและสมุนไพรในอาหารบางครั้งไม่ได้มีจุดหมายเพื่อทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เพราะสภาพของอาหารสามารถทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ได้อยู่แล้ว แต่ที่ใส่ก็เพื่อต้องการทำให้อาหารมีกลิ่น สีหรือรสชาติชวนรับประทาน

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเทศและสมุนไพรด้วยวิธี agar dilution method กานพลู พริกไทย แมงลัก โหระพา กะเพราและสะระแหน่ มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ และปัจจัยด้าน pH ความเข้มข้นของ NaCl และ a_w มีผลต่อการเจริญของ *Shigella* ดังนั้นในการนำเครื่องเทศหรือสมุนไพรเหล่านี้ใส่ในอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ที่อาจปนเปื้อนมาในอาหารจะต้องคำนึงถึงลักษณะต่าง ๆ ของอาหารด้วย กล่าวคือ ถ้าอาหารมี pH ความเข้มข้นของ NaCl และ/ หรือ a_w ที่ไม่เหมาะต่อการเจริญของ *Shigella* ก็ไม่จำเป็นต้องผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรในอาหาร เนื่องจากว่าปัจจัยดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ได้ แต่สำหรับอาหารที่มีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญของ *Shigella* ก็ควรจะผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรเหล่านี้ลงไปเพื่อยับยั้งการเจริญของ *Shigella* ที่อาจปนเปื้อนมาในอาหารจะทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยจากการรับประทานอาหารมากยิ่งขึ้นด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และคุณอรุณ บ่างตระกูลนนท์ หัวหน้าฝ่าย WHO National Salmonella – *Shigella* Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่อนุเคราะห์ *Shigella* spp. ที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

นิจศิริ เรืองรังษี. 2534. เครื่องเทศ. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. กรุงเทพมหานคร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2522. ประสิทธิภาพของกานพลูในการยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. ชลบุรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์อมรการพิมพ์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์อมรการพิมพ์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2530. เครื่องเทศ เล่ม 1 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน

ปัทมาวดี เสตะกัณฑะ, ธิดารัตน์ บุญรอด และจารีย์ บันสิทธิ์. 2542. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสมุนไพรไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 42 : 381-393.

ปัทมาวดี เสตะกัณฑะ, จารีย์ บันสิทธิ์ และธิดารัตน์ บุญรอด. 2545. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสมุนไพรไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 44 : 110-124.

สุพจน์ คิลานเภสัช. 2537. สมุนไพรเครื่องเทศและพืชปรุงแต่งกลิ่นรส. กรุงเทพมหานคร: ประพันธ์สาส์น จำกัด.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2537. ความปลอดภัยของอาหาร (การใช้ระบบ HACCP). กรุงเทพมหานคร : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น).

อนุวัฒน์ ศรีธน. 2544. ผลของสารสกัดจากโหระพาและกะเพราในการยับยั้งแบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย. ชลบุรี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ. 2540. แบบแผนการดื้อยาและค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Shigella* spp. ในประเทศไทย. วารสารเกษตรศาสตร์ 31: 291-296.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ. 2535. คู่มือประกอบการวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคลำไส้และการทดสอบยืนยันซัลโมเนลลาและชิกเกลลา. นนทบุรี กองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. 2003. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri.* Journal of Food Protection 66 : 668-673.

Center for Food Safety & Applied Nutrition. (2001, June). Bacterial pathogen growth and inactivation: Limiting conditions for pathogen growth. Retrieved March 11, 2004, from http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ haccp4×4.html.

Difco Labolatories, 1984. Difco Manual of Dehydrate Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. Michigan : Difgo Laboratories Incorporated.

Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antimicrobial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308-316.

Food borne infection-*Shigella*-Section II. (2003, July). Retrieved July 31, 2003, from http://www. ag.iastate.edu/departments/foodsci/classes/ fshn420/fbi_*Shigella*.html)

Hammer, K.A., Carson, C.A. and Reley, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology 86: 985-990.

Simon, James E., Quinn, J. and Murray,R.G. 1990. Basil a source of essential oils. Portland:Timber Press.

Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Journal of Applied Microbiology 26 : 118-122.

Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J. 1998. The effect of essential oil of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. Journal of Applied Microbiology 84 :152-158.