



ฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ROYAL JELLY AGAINST SKIN
PATHOGENIC BACTERIA

มนสรณ์ ลิขิตสุข

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ROYAL JELLY AGAINST SKIN
PATHOGENIC BACTERIA

มนสรณ์ ลิลีสุข

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



หน้าอนุมัติการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

การค้นคว้าอิสระเรื่องฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง

Antibacterial Activity of Royal Jelly Against Skin Pathogenic
Bacteria

ผู้ประพันธ์ มนสรณ์ ลีสีสุข

คณะกรรมการสอบ

อาจารย์ ดร.อาริญา สาริกะภูติ

รองศาสตราจารย์ ดร.ภักธรวิธรณ์ สิทธิประภาพร

รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน บันดี

ประธานกรรมการ

กรรมการ

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.ภักธรวิธรณ์ สิทธิประภาพร)

คณบดี

.....
(อาจารย์ ดร.กานต์ วงศ์สุภสวัสดิ์)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “ฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง” ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีจากการสนับสนุนและความช่วยเหลือจากหลายฝ่าย ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ภัครวรรณ สิริธิประภาพร อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำอย่างใกล้ชิด สนับสนุนและให้คำปรึกษาด้วยความเอาใจใส่ตลอดกระบวนการดำเนินงานวิจัย

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อาริญา สาริกะภูติ ประธานกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ และรองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปันดี คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะอันมีประโยชน์ และเป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัยให้สมบูรณ์และมีคุณค่ายิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ให้ความรู้ และแรงบันดาลใจในการศึกษาค้นคว้าอิสระนี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.รุจิราลัย พูลทวี และอาจารย์สุรีย์พร เอี่ยมศรี อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ได้ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ อีกทั้งยังเอื้อเฟื้อสถานที่ ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการทดลอง รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคเป็นอย่างดี

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ เพื่อนร่วมรุ่นและครอบครัว ที่คอยเป็นแรงสนับสนุนทางจิตใจและให้กำลังใจอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานวิจัยนี้ได้จนสำเร็จ และขอแสดงความขอบคุณต่อทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ด้วยความเคารพและสำนึกในพระคุณอย่างสูง

มนสรัญ ธิสีสุข

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	ฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง
ผู้ประพันธ์	มนสรัญ ลิสีสุข
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ภัทรวรรณ สิทธิประภาพร

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของนมผึ้งต่อเชื้อก่อโรคผิวหนัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Agar Well Diffusion และ Broth Microdilution เพื่อหาค่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งการเจริญ (Inhibition zone) ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ผลการวิเคราะห์เชิงพรรณนาพบว่า ค่า MIC และ MBC ของนมผึ้งต่อ *S. aureus* และ *C. acnes* เท่ากับ 75,000 µg/mL ขณะที่ยา Levofloxacin ใช้เพียง 5 µg/mL แม้ว่านมผึ้งจะต้องใช้ในปริมาณที่สูงกว่า แต่สามารถแสดงศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้กว้างขวางโดยไม่มีความเสี่ยงต่อการดื้อยาหรือผลข้างเคียงจากยาปฏิชีวนะสังเคราะห์ จึงชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของนมผึ้งในฐานะทางเลือกที่ปลอดภัยกว่าประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของนมผึ้งถูกนำมาเปรียบเทียบกับ Levofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะชนิดกว้างที่ใช้กันทั่วไป ผลการทดลองพบว่า นมผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* และ *C. acnes* ในระดับปานกลาง แต่ไม่สามารถยับยั้ง *S. pyogenes* ได้ ในขณะที่ Levofloxacin สามารถยับยั้งได้ทั้งสามชนิดเชื้อ การวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Mann-Whitney U test พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของนมผึ้งและ Levofloxacin ในด้านเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ค่า $p = 0.029$, $p < 0.05$) แต่ถึงกระนั้นนมผึ้งก็ยังแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ ผลการศึกษานี้สนับสนุนศักยภาพของนมผึ้งในฐานะสารต้านเชื้อแบคทีเรียจากธรรมชาติที่ใช้เสริมหรือเป็นทางเลือกแทนยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะในยุคที่ปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มสูงขึ้น

คำสำคัญ: นมผึ้ง, ฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย, Levofloxacin, MIC, MBC, โรคติดเชื้อทางผิวหนัง

Independent Study Title Antibacterial Activity of Royal Jelly against Skin Pathogenic Bacteria

Author Manasarun Leeseesuk

Degree Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Science)

Advisor Assistant Professor Phakharawat Sittiprapaporn, Ph. D.

ABSTRACT

This study evaluated the antibacterial activity of Royal Jelly against three common skin pathogens, including *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Cutibacterium acnes*. Antibacterial effects were assessed using Agar well diffusion and Broth microdilution methods to measure Inhibition zones, Minimum inhibitory concentration (MIC), and Minimum bactericidal concentration (MBC). The findings revealed that Royal Jelly exerted moderate inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* and *Cutibacterium acnes*, with MIC and MBC values of 75,000 µg/mL but showed no effect on *Streptococcus pyogenes*. In contrast, Levofloxacin, a standard broad-spectrum antibiotic, effectively inhibited all three bacterial strains at a much lower concentration of 5 µg/mL. Statistical analysis with the Mann-Whitney U test indicated a significant difference in antibacterial activity between Royal Jelly and Levofloxacin ($p = 0.029$, $p < 0.05$). These findings support the role of Royal Jelly as a promising natural agent, particularly valuable in the current era of increasing antimicrobial resistance.

Keywords: Royal Jelly, Antibacterial Activity, Levofloxacin, MIC, MBC, Skin Infections

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ความสำคัญของการวิจัย	4
1.4 สมมติฐานของการวิจัย	4
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ	5
1.7 กรอบแนวคิดของการวิจัย	6
2 การทบทวนวรรณกรรม	7
2.1 ข้อมูลสมุนไพรที่มีฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย	7
2.2 ข้อมูลนมผึ้งและสารสำคัญที่มีฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย	9
2.3 ข้อมูลการเก็บรักษาเพื่อคงคุณภาพของนมผึ้ง	16
2.4 ข้อมูลแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง	18
2.5 ข้อมูลการรายงานสถานการณ์การดื้อยา	20
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนมผึ้งและฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย	24
2.7 การนำนมผึ้งไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย	26
3 ระเบียบวิธีวิจัย	32
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย	32
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	33
3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล	39
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	42
4 ผลของการศึกษา	43
4.1 ผลการทดสอบ Agar Well Diffusion	43
4.2 ผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	47
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	52

สารบัญ

บทที่	หน้า
5.1 สรุป	52
5.2 อภิปรายผล	53
5.3 ข้อเสนอแนะ	55
รายการอ้างอิง	58
ภาคผนวก	66
ภาคผนวก ก เอกสารรับรองการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มผึ้ง : มกษ. 8200-2559	66
ภาคผนวก ข เอกสารรับรองการผ่านการเรียนหลักสูตรอบรมความปลอดภัยทาง ชีวภาพเบื้องต้น	67
ประวัติผู้ประพันธ์	68

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ส่วนประกอบเชิงชีวภาพของนมผึ้งและกลไกการออกฤทธิ์	11
4.1 ผลการวัดรัศมีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Inhibition zone) โดยวัดเป็นขนาดรัศมีเฉลี่ยของการยับยั้งเชื้อ (millimeter; mm) โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ	43
4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ของนมผึ้งเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus	44
4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ของนมผึ้งเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Cutibacterium acnes	45
4.4 ค่า MIC และ MBC ($\mu\text{g/mL}$) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ	48
4.5 ค่า MIC และ MBC ($\mu\text{g/mL}$) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย Cutibacterium acnes โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ	48

สารบัญภาพ

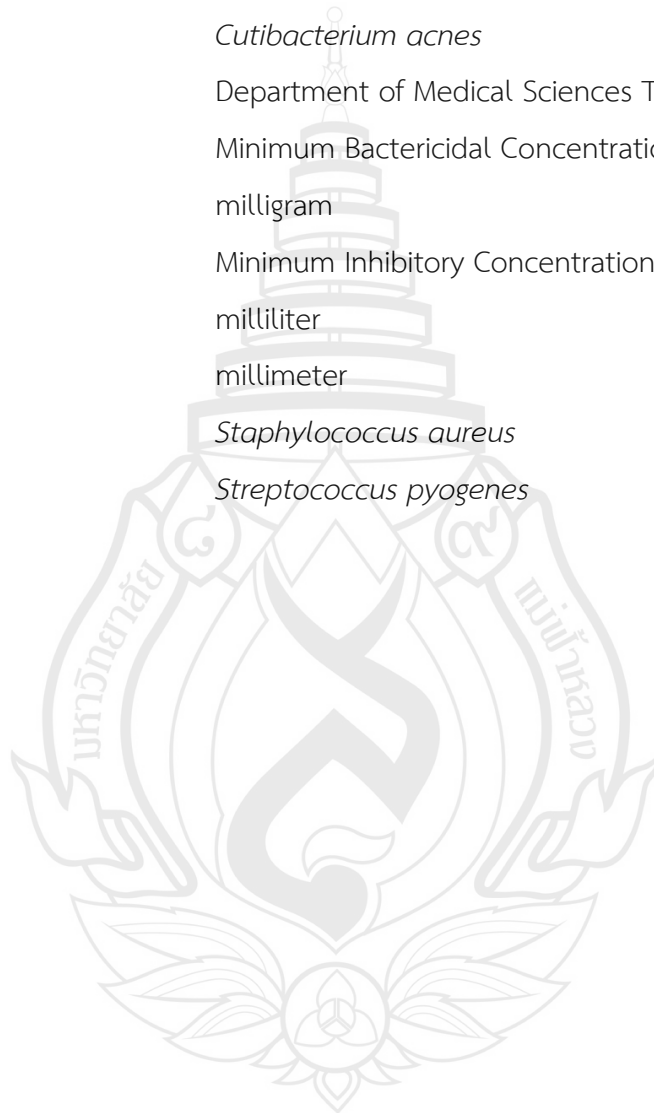
ภาพ	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดของการวิจัย	6
2.1 โครงสร้างของยา Levofloxacin	23
3.1 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)	33
3.2 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)	33
3.3 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile Cotton Swab)	34
3.4 ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) และปิเปตต์ ทิป (Pipette tip)	34
3.5 เครื่องชั่งสารเคมี (Analytical Balance)	35
3.6 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	35
3.7 โถบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Jar)	36
3.8 96 Well Plate, Flat-Bottle Sterile	36
3.9 Paper Disc ของยา Levofloxacin	36
3.10 Biological Safety Cabinet, BSC Class II	37
3.11 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork Borer)	38
3.12 เครื่อง UV Visible Spectrophotometer	38
3.13 การวัดและหาค่าเขตยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone Diameter)	41
4.1 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus	46
4.2 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย Streptococcus pyogenes	47
4.3 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย Cutibacterium acnes	47
4.4 การอ่านค่า MIC พิจารณาจากการเปลี่ยนสีของ Resazurin indicator จากน้ำเงินเป็นชมพูหรือไม่มีสี จากภาพหลุมที่มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของน้ำนมผึ้งที่สีของ Resazurin indicator ไม่เปลี่ยนเป็นชมพูหรือไม่มีสี คือ 75..mg/ml (75,000 µg/mL) จึงอ่านค่า MIC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากเติม Resazurin indicator แล้วบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)	49

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
4.5 การอ่านค่า MBC พิจารณาจากการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อแข็ง MHA จากภาพความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของของนํ้านมผึ้งที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ คือ 75 mg/ml (75,000 µg/mL) จึงอ่านค่า MBC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากบ่มจานเพาะเชื้อที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)	50
4.6 การอ่านค่า MIC พิจารณาจากการเปลี่ยนสีของ Resazurin indicator จากน้ำเงินเป็นชมพูหรือไม่มีสี จากภาพหลุมที่มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของนํ้านมผึ้งที่สีของ Resazurin indicator ไม่เปลี่ยนเป็นชมพูหรือไม่มีสี คือ 75 mg/ml (75,000 µg/mL) จึงอ่านค่า MIC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากเติม Resazurin indicator แล้วบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)	50
4.7 การอ่านค่า MBC พิจารณาจากการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อแข็ง BHIA จากภาพพบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของนํ้านมผึ้งที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ <i>Cutibacterium acnes</i> คือ 75 mg/ml (75,000 µg/mL) จึงอ่านค่า MBC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากบ่มจานเพาะเชื้อที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง)	51

อักษรย่อและสัญลักษณ์

µg	microgram
ATCC	American Type Culture Collection
<i>C. acnes</i>	<i>Cutibacterium acnes</i>
DMST	Department of Medical Sciences Thailand
MBC	Minimum Bactericidal Concentration
mg	milligram
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
mL	milliliter
mm	millimeter
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาวิจัย

การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย (Antibiotic Resistance) เป็นอีกหนึ่งในปัญหาสุขภาพที่สำคัญของยุคปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง ซึ่งผิวหนังถือเป็นปราการด่านแรกป้องกันไม่ให้เชื้อโรคหรือสิ่งต่าง ๆ ที่อันตรายเข้าสู่ในร่างกายมนุษย์ (George et al., 2022) ในปี ค.ศ. 2024 ทาง CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ซึ่งเป็นศูนย์ควบคุมโรคติดต่อของประเทศไทยได้กล่าวถึงเชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะที่มักพบในสถานพยาบาลหนึ่งนั้นคือเชื้อแบคทีเรียดื้อยา MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) โดยแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมเกาะกลุ่มกันคล้ายพวงองุ่น พบในโรคทางผิวหนังเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ทาง CDC ได้กล่าวถึงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังที่เริ่มมีการดื้อยาคือ *Streptococcus pyogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมต่อกันเป็นสาย โดยแบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดโรคทางผิวหนังอย่าง โรคแผลพุพอง หรือ Impetigo โดยในแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อทางผิวหนังของ Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft Tissue Infections 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) ได้มีคำแนะนำในการเลือกยารับประทานที่ใช้รักษา ซึ่งหากแผลมีหนองในระดับปานกลาง จะใช้ยา Co-trimoxazole, Dicloxacillin หรือ Cephalexin แต่ถ้าหากมีอาการรุนแรงขึ้นยาที่แนะนำ คือยา Vancomycin, Linezolid หรือ Ceftaroline ส่วนการติดเชื้อที่รุนแรงแต่ไม่ดื้อยาจะใช้ยา Nafcillin, Cefazolin หรือ Clindamycin และในส่วนการติดเชื้อที่ไม่มีหนองจะมีการใช้ยาในกลุ่ม Penicillin, Clindamycin และหากรุนแรงมากจะใช้ยา Vancomycin แม้ว่าในปัจจุบันยังคงใช้แนวทางการรักษาของ IDSA 2014 นี้อยู่ แต่ก็มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. pyogenes* นี้มีอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะชนิดรับประทานอย่าง ยา Clindamycin มากขึ้น มีการรายงานการดื้อยาในหลายประเทศในทวีปยุโรป เช่น ประเทศเนเธอร์แลนด์ (Gooskens et al., 2005) และประเทศฟินแลนด์ (Pesola et al., 2015) เป็นต้น อีกทั้งยังพบอุบัติการณ์การดื้อยาในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ประเทศจีน ที่ได้มีการศึกษาวิจัยโดยนำเชื้อ *S. pyogenes* จากโรงพยาบาลหลายแห่งในประเทศจีนมา 140 ตัว แล้วมาทดสอบการดื้อยา พบว่า 94.2% เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยา Clindamycin ซึ่งมากที่สุดในกลุ่มยาที่นำมาทดสอบร่วมด้วย เช่น Erythromycin และ

Tetracycline (Lu et al., 2017) นอกจากนี้หากกล่าวถึงโรคทางผิวหนังแล้ว คงจะขาดโรคสิว (Acne vulgaris) ไปไม่ได้ เพราะโรคสิวนอกจากจะทำให้ผู้ป่วยมีการอักเสบที่ใบหน้าแล้วยังทำให้เกิดความกังวลด้านความสวยงามของหน้าตาอีกด้วย สิวเกิดได้จากหลายสาเหตุซึ่งหนึ่งในนั้นคือ การติดเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* หรือชื่อเดิม คือ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง ที่เจริญได้ดีในสภาวะไร้ออกซิเจน สำหรับแนวทางการรักษาสิวตาม Guidelines of care for the management of acne vulgaris 2024 ได้ระบุยาที่ใช้ในการรักษาสิวหลายชนิดด้วยกัน หากเป็นสิวในระยะเริ่มต้นจะมีการใช้ยาทาภายนอกก่อน อันได้แก่ ยากลุ่มกรดวิตามินเอ ยา Benzoyl peroxide และ/หรือ ยาปฏิชีวนะ เช่น ยา Clindamycin เป็นต้น แต่การใช้ยาปฏิชีวนะเดี่ยว ๆ จะทำให้เกิดเชื้อดื้อยาส่งผลให้การรักษาล้มเหลวได้ ดังนั้นหากมีการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดทาควรใช้ร่วมกับยา Benzoyl peroxide ด้วยเพื่อป้องกันการดื้อยา (Reynolds et al., 2024) อีกทั้งมีการศึกษาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* ในประเทศแถบเอเชียอีกด้วยว่า ในประเทศเกาหลีพบอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะที่ใช้สำหรับทาภายนอกรักษาสิว คือ Clindamycin และ Erythromycin โดยอัตราการดื้อยาเหล่านี้เท่ากับ 30% และ 26.7% ตามลำดับ และยังมีรายงานการดื้อยาของ *P. acnes* ในประเทศฮ่องกง พบว่า มีการดื้อยา Clindamycin และ Erythromycin โดยอัตราการดื้อยาเหล่านี้เท่ากับ 53.5% และ 20.9% ตามลำดับ (Dessinioti et al., 2017) ดังนั้นแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมาล้วนก่อให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขเนื่องจากบางตัวเป็นเชื้อดื้อยาไปแล้วทำให้การรักษายากขึ้นส่วนบางตัวกำลังพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยาโดยเฉพาะดื้อต่อยา Clindamycin ที่อุบัติการณ์การดื้อยานี้เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ค้นหาหาที่มีอัตราการดื้อยาน้อย และใช้ปริมาณน้อยก็สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่สนใจได้ ดังนั้นจึงค้นหาหาที่เป็น Broad spectrum (ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง) เพื่อนำมาทำเป็น Positive control (กลุ่มควบคุมบวก) ซึ่งเป็นกลุ่มที่คาดหวังว่าปรากฏการณ์ที่เป็นผลลัพธ์จะเกิดขึ้นแน่นอน จึงได้มาเป็นยา Levofloxacin ซึ่งมีรายงานว่ายาตัวนี้มีแนวโน้มการดื้อต่อ *C. acnes* ลดลงในช่วงปี ค.ศ. 2015-2023 (จาก 10.8% เหลือ 1.4%) แต่ยา Clindamycin และยา Erythromycin มีอัตราการดื้อยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Beig et al., 2024)

มีสมุนไพรหลากหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง ซึ่งได้รับการวิจัยและยืนยันถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ และช่วยบรรเทาอาการอักเสบ ตัวอย่างสมุนไพรที่มีฤทธิ์เด่นในด้านนี้ ได้แก่ ว่านหางจระเข้ (Aloe vera) สารอะโลอิน (Aloin) และสารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ที่ช่วยต้านการอักเสบและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนัง (Arbab et al., 2021) อีกทั้งยังพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากต้นทีทรี (*Melaleuca alternifolia*) มีสารเทอร์ปีน (Terpenes) ที่ช่วยกำจัดเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Escherichia coli* (Hammer et al., 2012) แม้สมุนไพรเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพสูงในการต้าน

เชื้อแบคทีเรียและรักษาโรคทางผิวหนัง แต่นมผึ้งโดดเด่นในด้านการเป็นสารธรรมชาติที่ไม่เพียงมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ แต่ยังช่วยเสริมสร้างการฟื้นฟูเซลล์ผิว เพิ่มความชุ่มชื้น และด้านการอักเสบ ทำให้นมผึ้งกลายเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อดูแลปัญหาผิวหนังที่มีความปลอดภัยและอ่อนโยนต่อผู้ใช้ และมีงานวิจัยที่ทำในภาคเหนือของประเทศไทย โดยศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผึ้งจากจังหวัดลำพูนและจังหวัดเชียงใหม่ โดยแบคทีเรียที่นำมาศึกษานั้น ได้แก่ *Cutibacterium acnes*, *MRSA*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp.* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ทำการทดสอบค่า MIC และ MBC ซึ่งเป็นค่าการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่านมผึ้งสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *MRSA*, *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* แต่เมื่อนำไปทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่าความไวต่อการยับยั้งเชิื่อน้อยกว่าแกรมบวก (Uthaibutra et al., 2023) แสดงถึงฤทธิ์ของนมผึ้งในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้ดี

นมผึ้ง หรือ Royal Jelly มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีขาวข้นถึงเหลืองอ่อน นมผึ้งเป็นสารอาหารที่ผลิตขึ้นจากต่อมใต้คอหอย (Hypopharyngeal gland) และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกร (Mandibular salivary gland) ของผึ้งงาน ซึ่งมาจากผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ใช้เป็นอาหารเลี้ยงตัวอ่อนของผึ้ง และผึ้งนางพญา โดยให้นมผึ้งแก่ตัวอ่อนของผึ้งแค่ 72 ชั่วโมง หรือประมาณ 3 วัน แต่เป็นอาหารให้แก่นางพญาผึ้งตลอดชีวิต โดยนมผึ้งนั้นได้ถูกจัดเป็น “Superfood” เนื่องจากอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ไม่ว่าจะเป็น โปรตีน วิตามิน ไขมัน แร่ธาตุ ฮอโมน ที่ส่งเสริมสุขภาพให้ดีขึ้น (Oršolić & Jazvinščak Jembrek, 2024) มีงานวิจัยพบว่าสารประกอบที่อยู่ในนมผึ้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โปรตีน Royalisin, MRJP-1 (Major royal jelly protein) หรือ Royalactin, MRJP-2, MRJP-4, Jelleines I-III และ Apalbumin 2 รวมไปถึงกรดไขมันอย่าง 10-Hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) (Bagameri et al., 2022) มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียคือยา *MRSA* ของ MRJP-1 ซึ่งเป็นโปรตีนในนมผึ้ง โดยทำการทดสอบ Agar diffusion assay ตามด้วยการทดสอบ MIC (Minimum Inhibitory Concentration) พบว่า MRJP-1 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *MRSA* ได้ แสดงให้เห็นถึงว่า MRJP-1 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือยา *MRSA* ได้ดี (Brudzynski et al., 2015)

อย่างไรก็ตามในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผึ้งในประเทศไทย อย่างเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* ยังมีจำนวนจำกัด การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวของนมผึ้งจากประเทศไทย โดยคาดหวังว่าผลการศึกษารั้งนี้จะนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ และตำรับยาสำหรับใช้เป็นทางเลือกในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนังสืบต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของนมผึ้งในการยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง โดยเปรียบเทียบในกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด ได้แก่ นมผึ้ง และยา Levofloxacin

1.3 ความสำคัญของการวิจัย

- 1.3.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผึ้ง
- 1.3.2 เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลในการพัฒนานมผึ้งในด้านการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง
- 1.3.3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ทางด้านการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง ในการเป็นสารทางเลือกจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

- 1.4.1 ในการทดสอบหาค่า Zone of inhibition ด้วยวิธี Agar well diffusion นมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* เทียบเท่ากับยา Levofloxacin
- 1.4.2 ในการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) นมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* เทียบเท่ากับยา Levofloxacin
- 1.4.3 ในการทดสอบหาค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) นมผึ้งสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* เทียบเท่ากับยา Levofloxacin

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.5.1 ขอบเขตด้านพื้นที่ ได้ทำการศึกษา นมผึ้งที่เก็บจากฟาร์มในพื้นที่จังหวัดเชียงราย โดยเก็บตัวอย่างจากฟาร์มผึ้งที่ได้รับการรับรองการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มผึ้ง: มกษ. 8200-2559 (ภาคผนวก)

1.5.2 ขอบเขตด้านกลุ่มตัวอย่าง โดยตัวอย่างนมผึ้งที่เก็บจากผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งเลี้ยงในพื้นที่ที่ผึ้งมีการเก็บเกสรจากดอกไม้ป่าในแหล่งธรรมชาติ และเก็บตัวอย่างนมผึ้งในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม พ.ศ. 2567 ซึ่งเป็นช่วงเวลาแห่งการบานสะพรั่งของดอกไม้ป่าชนิด หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -2°C

1.5.3 ขอบเขตด้านเนื้อหาที่ศึกษา ทำการศึกษาโดยนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes*

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 นมผึ้ง (Royal Jelly) หมายถึง สารคัดหลั่งที่ผลิตขึ้นจากต่อมใต้คอหอย และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรของผึ้งงาน มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีขาวข้นถึงเหลืองอ่อนใช้เป็นอาหารเลี้ยงตัวอ่อนผึ้งและผึ้งนางพญา

1.6.2 ผึ้งพันธุ์ หมายถึง สายพันธุ์หนึ่งของผึ้งที่มีชื่อภาษาไทยว่า “ผึ้งพันธุ์” และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า “*Apis mellifera*” ที่เลี้ยงไว้เพื่อผลิตน้ำผึ้ง ผลิตนมผึ้ง และการผสมเกสร

1.6.3 เกสรดอกไม้ป่า หมายถึง การใช้เกสรดอกไม้ป่าพันธุ์จากแหล่งธรรมชาติ เช่น พื้นที่ธรรมชาติที่ไม่ได้จำกัดเฉพาะพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง

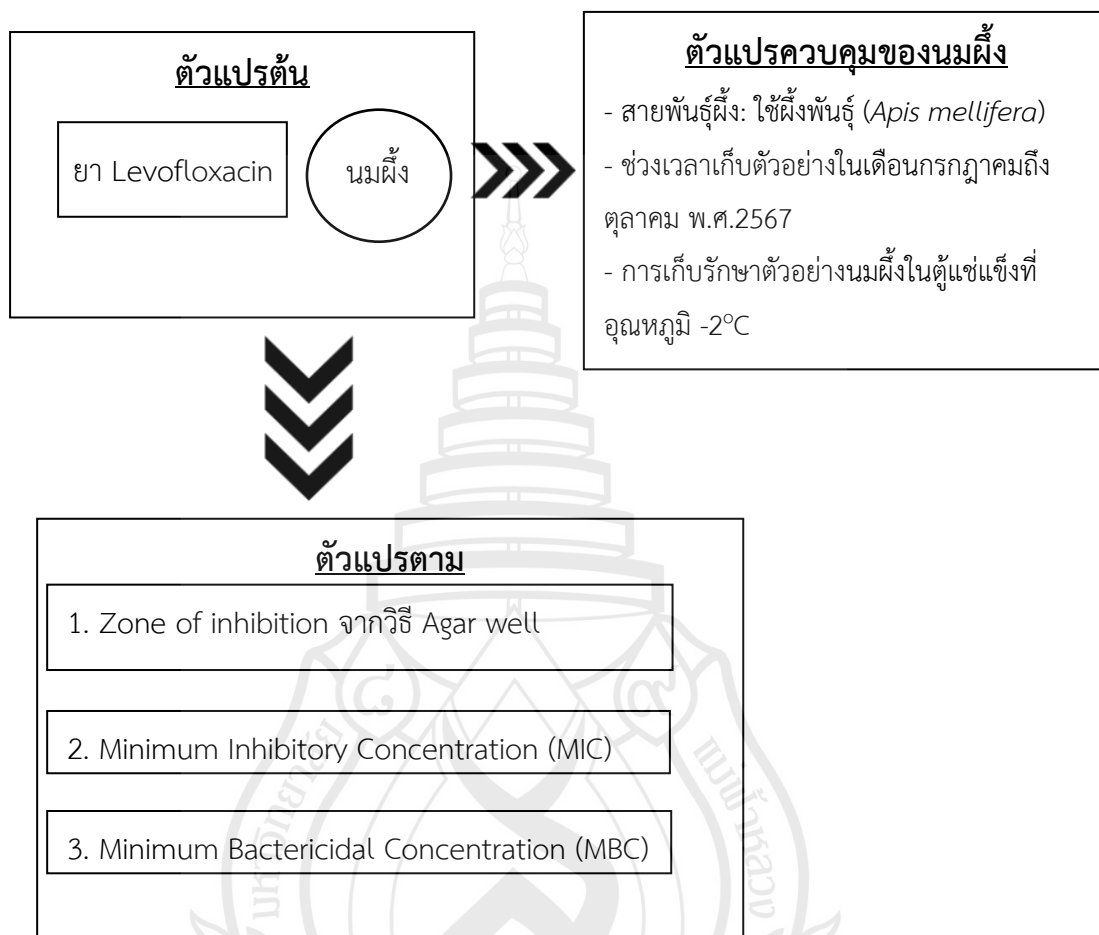
1.6.4 นมผึ้งจากเกสรดอกไม้ป่า หมายถึง นมผึ้งที่ได้จากผึ้งที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระ หรือผึ้งที่ออกไปหาอาหารจากดอกไม้ป่าหลากหลายชนิด ไม่ได้จำกัดอยู่เพียงพืชเกษตรหรือพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง

1.6.5 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง หมายถึง เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes*

1.6.6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย หมายถึง ความสามารถของสารหรือยาที่ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย โดยไม่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง มักประเมินโดยการวัดค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

1.6.7 ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หมายถึง ความสามารถของสารหรือยาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียให้ตายอย่างสิ้นเชิง ไม่สามารถเจริญเติบโตได้อีก มักประเมินโดยการวัดค่า MBC (Minimum Bactericidal Concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด

1.7 กรอบแนวคิดของการวิจัย



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดของการวิจัย

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

การทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาของ นมผึ้ง หรือ Royal Jelly พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ให้คุณประโยชน์มากมายหนึ่งในนั้นคือฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นที่น่าสนใจเนื่องจากในปัจจุบันองค์การสาธารณสุขทั่วโลกกำลังเผชิญกับปัญหาเชื้อแบคทีเรียดื้อยา ดังนั้นการหาสารทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ โดยงานวิจัยครั้งนี้จะมุ่งเน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* ของนมผึ้ง โดยในบทนี้จะทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

- 2.1 ข้อมูลสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
- 2.2 ข้อมูลนมผึ้งและสาระสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
- 2.3 ข้อมูลการรักษาเพื่อคงคุณภาพของนมผึ้ง
- 2.4 ข้อมูลแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง
- 2.5 ข้อมูลการรายงานสถานการณ์การดื้อยา
- 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนมผึ้งและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
- 2.7 การนำนมผึ้งไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

2.1 ข้อมูลสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มนุษย์ใช้ประโยชน์ในด้านสุขภาพ และในด้านรักษาโรคมาตั้งแต่อดีต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการต้านเชื้อแบคทีเรีย สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยอมรับและวิจัยว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค รวมถึงช่วยบรรเทาอาการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ ความน่าสนใจของสมุนไพรเหล่านี้อยู่ที่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความหลากหลาย เช่น สารประกอบฟีนอล (Phenol), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) และเทอร์ปีน (Terpene) ซึ่งสารเหล่านี้มีศักยภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจุบันนั้นโรคติดเชื้อที่เกิดมาจากแบคทีเรีย เช่น สิว, ผิวหนังอักเสบ, หรือการติดเชื้อเรื้อรัง ได้กลายเป็นปัญหาสุขภาพที่ต้องได้รับการดูแลอย่างเหมาะสม การใช้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ปลอดภัยและยั่งยืน ไม่เพียงแต่ลดการพึ่งพายาปฏิชีวนะซึ่งอาจก่อให้เกิดการดื้อยา แต่ยังช่วยส่งเสริมสุขภาพผิวใน

ระยะยาว โดยมีตัวอย่างสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้ เช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของตำรับสมุนไพรไทย เพื่อศึกษาความคงตัวและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนัง โดยใช้ตำรับสมุนไพรไทยที่ประกอบด้วยสมุนไพร 9 ชนิด เช่น เหงือกปลาหมอ พญาาย เปลือกมังคุด พลู และบัวบก สำหรับผลการศึกษาระบุว่าตำรับสมุนไพรที่ใช้ทดสอบนั้นมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* และ *Candida albicans* โดยค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) อยู่ในช่วง 0.5-5 mg/mL จึงสรุปได้ว่าสมุนไพรไทยมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาโรคผิวหนัง เช่น กลาก สิว และการติดเชื้อรา (ชาฟาวิ มะแม และคณะ, 2565) ต่อมาเมื่อพบความที่ได้พบพบตำรับยาสมุนไพรจากภูมิปัญญาไทยที่ใช้รักษาโรคผิวหนังพบว่าสมุนไพรหลายชนิด เช่น ขมิ้นชัน, ว่านหางจระเข้, ใบพลู และฟ้าทะลายโจร ได้มีรายงานถึงฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคผิวหนัง เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* ซึ่งสนับสนุนการนำมาใช้ในการดูแลโรคติดเชื้อผิวหนังตามแนวทางการแพทย์แผนไทย (ปฐมา จันทรพล และคณะ 2566) ต่อมาเป็นงานวิจัยที่เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดว่านหางจระเข้กับยาปฏิชีวนะต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางผิวหนัง ได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, และ *Staphylococcus aureus* โดยจากผลการศึกษาระบุไว้ว่า สารสกัดจากว่านหางจระเข้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสารสกัดด้วยเอทานอลซึ่งให้ผลสูงที่สุด อีกทั้งผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของว่านหางจระเข้มีความใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะบางชนิด เช่น Amoxicillin (Arbab et al., 2021) ต่อมาเป็นการศึกษาผลของน้ำมันทีทรี (*Melaleuca alternifolia*) และสาร Terpinen-4-ol ต่อการพัฒนาความดื้อยาปฏิชีวนะในเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งผลการศึกษาระบุว่าน้ำมันทีทรีและสาร Terpinen-4-ol มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ อีกทั้งยังไม่มีผลกระทบสำคัญต่อการพัฒนาความดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในระยะยาว น้ำมันทีทรียังมีฤทธิ์ที่ปลอดภัยต่อการดื้อยาปฏิชีวนะในบางกรณี เช่น Kanamycin และ Rifampicin (Hammer et al., 2012) และมีการศึกษาที่พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยหลายชนิด เช่น พลู (*Piper betle*) และสาร Plumbagin จาก เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica*) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงในลูกสุกร ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิดที่ทดสอบสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่า MIC ระหว่าง 5-10 mg/ml แตกต่างจากกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีค่า MIC ต่ำกว่าอย่างชัดเจน นอกจากนี้สารสกัดจากพลู ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ในขณะที่บางยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งได้เพียงบางชนิด การศึกษานี้จึงสนับสนุนการใช้สมุนไพรไทยเป็นทางเลือกในการรักษาภาวะท้องร่วง และให้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาตำรับสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพต่อโรคติดเชื้อ

แบคทีเรียในลูกสุกร และอาจขยายไปใช้กับโรคติดเชื้อชนิดอื่น ๆ ในอนาคต (Ketpanyapong & Itharat, 2016) การศึกษานี้พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย ได้แก่ ฝาง (*Caesalpinia sappan* Linn.) และ ดอกจันทน์เทศ (*Syzygium aromaticum*) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลายชนิดที่เป็นเชื้อก่อโรคบนผิวหนังและเชื้อแบคทีเรียดื้อยา เช่น *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* โดยสารสกัดจาก *Caesalpinia sappan* Linn. มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดจากดอกจันทน์เทศ และการรวมกันของสารสกัดทั้งสองชนิดไม่พบว่ามีฤทธิ์เสริมกัน ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของเจลล้างมือที่มีสารสกัดจากฝางอยู่ระหว่าง 1.25–20 mg/mL จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าฝางเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพสำหรับพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นอีกทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในอนาคต (Kondo et al., 2017)

แม้สมุนไพรเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพสูงในการต้านเชื้อแบคทีเรียและรักษาโรคทางผิวหนัง แต่ นมผึ้ง โดดเด่นในด้านการเป็นสารธรรมชาติที่ไม่เพียงมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ แต่ยังช่วยเสริมสร้างการฟื้นฟูเซลล์ผิว เพิ่มความชุ่มชื้น และด้านการอักเสบ ทำให้นมผึ้งกลายเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อดูแลปัญหาผิวหนังที่มีความปลอดภัยและอ่อนโยนต่อผู้ใช้ และมีงานวิจัยที่ทำในภาคเหนือของประเทศไทย โดยศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผึ้งจากจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ โดยแบคทีเรียที่ทำมาศึกษา ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes*, MRSA, *Staphylococcus aureus* และอื่น ๆ ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* โดยได้ทำการทดสอบค่า MIC ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของนมผึ้งที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และ MBC ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของนมผึ้งที่สามารถฆ่าเชื้อได้ พบว่า นมผึ้งสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแบคทีเรียแกรมบวก เช่น MRSA, *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* แต่เมื่อนำไปทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบอย่าง *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า ความไวต่อการยับยั้งเชื้อน้อยกว่าเชื้อแกรมบวก แสดงให้เห็นถึงความสามารถของนมผึ้งในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อโรคทางผิวหนังได้เป็นอย่างดี (Uthaibutra et al., 2023)

2.2 ข้อมูลนมผึ้งและสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

นมผึ้ง หรือ Royal Jelly มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีขาวจนถึงเหลืองอ่อน นมผึ้งเป็นสารอาหารที่ผลิตขึ้นจากต่อมใต้คอหอย (Hypopharyngeal gland) และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกร (Mandibular salivary gland) ของผึ้งงานที่มีอายุเฉลี่ยประมาณ 5-15 วัน ซึ่งมาจากผึ้งพันธุ์ (*Apis*

mellifera) ได้ถูกใช้เป็นอาหารเลี้ยงตัวอ่อนของผึ้ง และผึ้งนางพญา โดยให้นมผึ้งแก่ตัวอ่อนของผึ้งแค่ 68-72 ชั่วโมง หรือประมาณ 3 วัน แต่เป็นอาหารให้แก่นางพญาผึ้งตลอดชีวิต โดยนมผึ้งนั้นได้ถูกจัดเป็น “Superfood” เนื่องจากอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ไม่ว่าจะเป็น โปรตีน วิตามิน ไขมัน แร่ธาตุ ฮอโมน ที่ส่งเสริมสุขภาพให้ดีขึ้น (Oršolić & Jazvinščak Jembrek, 2024) โดยนมผึ้งมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีประโยชน์ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (10-12%), โปรตีน (9-18%), น้ำตาล (7-18%), ไขมัน (3-8%), วิตามิน B1, B2, B3, B5, B6, B7, B12 และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น กรดไขมัน 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ที่มีบทบาทสำคัญในด้านต่าง ๆ ของสุขภาพมนุษย์ และนมผึ้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และสารฟีนอล (Phenol) ที่ช่วยลดการเกิดออกซิเดชันและความเสียหายจากอนุมูลอิสระในร่างกาย (Collazo et al., 2021) เมื่อได้เจาะลึกสารสำคัญในนมผึ้ง จึงพบว่ามีโปรตีนของนมผึ้ง (Major Royal Jelly Proteins; MRJPs) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญที่พบเฉพาะในนมผึ้ง อีกทั้งยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการพัฒนาตัวอ่อนและการเจริญเติบโตของผึ้งราชินี โดยโปรตีนนมผึ้ง MRJPs มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตอื่นด้วย ต่อมาเป็น 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ซึ่งเป็นกรดไขมัน อันเป็นเอกลักษณ์ของนมผึ้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้านแบคทีเรีย และเสริมระบบภูมิคุ้มกัน อีกทั้งในส่วนการออกฤทธิ์ของนมผึ้งพบว่ามีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) โดยสาร 10-HDA และโปรตีน MRJPs ช่วยลดการอักเสบผ่านการยับยั้งการหลั่งสารที่กระตุ้นการอักเสบ เช่น Cytokines และมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anticancer) โดยนมผึ้งแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในหลากหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม และมีกลไกการออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งตายแบบ Apoptosis อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulatory effects) โดยไปกระตุ้นการทำงานของ Macrophages และการหลั่ง Cytokines เพื่อเสริมภูมิคุ้มกันและส่งเสริมการสมานแผล (Wound healing) โดยไปเร่งการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังและการสร้างคอลลาเจน และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant effects) จากการที่สาร Flavonoids และ Phenolic compounds ช่วยลดความเสียหายจากอนุมูลอิสระ นอกจากนี้นมผึ้งยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้อีกด้วย โดยในนมผึ้งมี Royalisin ซึ่งเป็นโปรตีนต้านจุลชีพ (Antimicrobial peptide) โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก สำหรับการออกฤทธิ์ของ Royalisin พบว่า ออกฤทธิ์โดยการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียเสียสมดุลและตาย อีกทั้งยังเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของผึ้ง ช่วยป้องกันการติดเชื้อในรังผึ้ง และด้วยฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่โดดเด่น Royalisin มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นสารต้านจุลชีพสำหรับการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Supabphol, 2002)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบเชิงชีวภาพของนมผึ้งและกลไกการออกฤทธิ์

ส่วนประกอบชีวภาพโปรตีน	นมผึ้งสด (%)	กลไกการออกฤทธิ์
MRJP1 (Royalactin, Apalbumin 1)	5.98%	ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา, ช่วยสมานแผล, ด้านการอักเสบ, กระตุ้นภูมิคุ้มกัน
MRJP2 (Apalbumin 2)	1.41%	ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส, ด้านอนุมูลอิสระ, ช่วยสมานแผล, กระตุ้นภูมิคุ้มกัน, ด้านมะเร็ง
MRJP3	1.66%	ลดอาการภูมิแพ้, ด้านการอักเสบ, กระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน, ลดการหลั่งสารก่อความอักเสบ เช่น IL-2, IL4
MRJP4	0.89%	ต้านจุลชีพ
เอนไซม์	นมผึ้งสด (%)	กลไกการออกฤทธิ์
Glucose Oxidase	0.08%	กระตุ้นการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต, ด้านเชื้อแบคทีเรีย
เปปไทด์และโปรตีนต้านจุลชีพ	นมผึ้งสด (%)	กลไกการออกฤทธิ์
Royalisin	0.83%	ต้านจุลชีพ, ด้านแบคทีเรีย เชื้อรา โดยทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์
Apisimin	0.13%	ต้านแบคทีเรีย, กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งของมนุษย์ คือ โมโนไซต์
Jelleins I-III	0.37%	ต้านแบคทีเรีย, ด้านเชื้อยีสต์และแบคทีเรียแกรมบวกและลบ, กระตุ้นภูมิคุ้มกัน
กรดไขมัน	นมผึ้งสด (%)	กลไกการออกฤทธิ์
10-Hydroxy-2-Decenoic Acid (10-HDA)	0.75-3.39%	กระตุ้นภูมิคุ้มกัน, ด้านการอักเสบ, ช่วยสร้างเซลล์ประสาทใหม่, ด้านเชื้อแบคทีเรีย
10-Hydroxydecanoic Acid (10-HDAA)	0.78-1.05%	ด้านการอักเสบ, กระตุ้นเซลล์รับรู้ความเจ็บปวด (TRPA1 และ TRPV1)

ที่มา Oršolić and Jazvinščak Jembrek. (2024)

โปรตีนในนมผึ้ง หรือ Major Royal Jelly Protein (MRJP) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้แก่ MRPJ1 (Royalactin, apalbumin1), MRPJ2 (Apalbumin 2), MRPJ4 และมีเปปไทด์ในนมผึ้งที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้แก่ Royalisin, Apisimin, Jelleines I-III, Jelleine IV (Bagameri et al., 2022) นอกจากนี้ยังพบว่า เปปไทด์ในนมผึ้งอย่าง Royalisin มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และ *Paenibacillus larvae* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้อีกด้วย คาดได้ว่ามีกลไกในการกระตุ้นการรั่วไหลของสารที่สำคัญในเซลล์ของแบคทีเรียไม่ว่าจะเป็นไอออน สารอาหารต่าง ๆ ให้หลุดออกจากเซลล์ อีกทั้งยังไปเพิ่มความไวต่อการถูกทำลายจากสารภายนอก เช่น สารออกซิเดชัน หรือยาปฏิชีวนะ และเปปไทด์อีกตัวที่น่าสนใจคือ Jelleines ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกอย่าง *Staphylococcus aureus* รวมไปถึง MRSA และ *Bacillus subtilis* อีกทั้งยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้อีกด้วย สำหรับกลไกในการต้านเชื้อแบคทีเรียคาดว่าเกิดจากการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยแทรกซึมเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และทำให้เกิดรูรั่วในผนังเซลล์และทำให้เซลล์สูญเสียความสมดุลและมีอีกกลไกคือไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แล้วเมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายแบคทีเรียจะไม่สามารถแบ่งตัวได้และตายในที่สุด (Khazaei et al., 2018) มีการศึกษาที่แยกชนิดของเปปไทด์ Jelleines เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา โดยแยก Jelleines ออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ Jelleine-1, Jelleine-2, Jelleine-3 และ Jelleine-4 โดยศึกษาในเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus subtilis* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และเชื้อรา *Candida albicans* โดยพบว่า Jelleine-1 ถึง 3 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อรา ส่วน Jelleine-4 พบว่า ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพในงานวิจัยนี้ โดยฤทธิ์ที่ต้านจุลชีพได้ของ Jelleine-1 ถึง 3 คาดว่าอาจเกิดจากโครงสร้างของ Jelleines ที่มีโครงสร้างที่ชอบน้ำและชอบไขมัน (Amphipathic structure) ซึ่งช่วยให้จับกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีประจุลบของแบคทีเรียและเชื้อราได้ โดยการจับทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายจนทำให้เกิดรูรั่ว (Pore formation) ส่งผลให้ไอออนและสารสำคัญภายในเซลล์รั่วออกมานำไปสู่หยุดการทำงานของเซลล์ และยังพบอีกว่า Jelleines มีฤทธิ์จำเพาะต่อเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียและเชื้อรา แต่ไม่ส่งผลต่อเม็ดเลือดแดงหรือเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Fontana et al., 2004) และมีการศึกษาที่วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลชีพของ Royalisin ซึ่งจัดได้ว่าเป็นโปรตีนต้านจุลชีพ (Antimicrobial peptide; AMP) ที่ได้จากนมผึ้งต่อฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก สำหรับวิธีการศึกษาจะใช้เทคนิค Recombinant protein เพื่อผลิต Acc-Royalisin และแยกให้บริสุทธิ์ จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อแบคทีเรียแกรมบวกอย่าง *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus* และ *Staphylococcus aureus* และแกรมลบอย่าง *Escherichia coli* และ

Salmonella typhimurium รวมถึงเชื้อรา *Aspergillus oryzae*, *Penicillium viridicatum* และ *Pichia pastoris* แล้วไปวิเคราะห์ด้วยการวัดความสามารถในการเปลี่ยนแปลงความชอบน้ำของผิวเซลล์เชื้อแบคทีเรีย และการศึกษาการรั่วไหลของสารสำคัญในเซลล์แบคทีเรีย เช่น DNA และ RNA โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 260 nanometer และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Transmission Electron Microscopy; TEM) เพื่อศึกษาความเสียหายของเซลล์ สำหรับผลการศึกษาพบว่า Acc-Royalisin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus subtilis* (MIC = 62.5 µg/mL), *Micrococcus flavus* (MIC = 125 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC = 250 µg/mL) แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมลบอย่าง *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* และเชื้อรา *Aspergillus oryzae*, *Penicillium viridicatum* และ *Pichia pastoris* ในส่วนของกลไกที่คาดว่าเกิดจากการออกฤทธิ์ในการไปลดความชอบน้ำของผิวเซลล์ (Surface Hydrophobicity) โดย Acc-Royalisin ทำให้ความสามารถของแบคทีเรียในการเกาะกับพื้นผิวเชื้อลดลงอย่างชัดเจน อีกทั้งยังทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Membrane Disruption) โดยการไปกระตุ้นการรั่วไหลของ DNA และ RNA ออกจากเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งจะก่อให้เกิดเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ Acc-Royalisin ลดลงเมื่ออุณหภูมิที่อุณหภูมิสูงกว่า 45°C แต่ยังคงมีประสิทธิภาพถึงแม้ที่อุณหภูมิ 55–85°C (Shen et al., 2012)

นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบเฉพาะในนมผึ้ง มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด อีกทั้งยังไปช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค เช่น *Staphylococcus aureus* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและ *Escherichia coli* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คาดว่าด้วยกลไกการทำลายโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และไปยับยั้งเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสร้างผนังเซลล์ (Peptidoglycan) ทำให้แบคทีเรียสูญเสียการทำงานและตายลง (Yang et al., 2018) โดยมีการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ซึ่งเป็นกรดไขมันหลักที่สำคัญในนมผึ้งต่อแบคทีเรีย *Paenibacillus larvae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค American Foulbrood (AFB) ในตัวอ่อนผึ้งซึ่งตัวอ่อนผึ้งเกิดการเน่า ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลชีพของ 10-HDA โดยเปรียบเทียบความไวของสายพันธุ์แบคทีเรียที่มี ERIC genotypes ต่างกัน และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลชีพของ 10-HDA ภายใต้สภาวะ pH ต่าง ๆ รวมไปถึงการศึกษาผลของ 10-HDA ต่อเซลล์แบคทีเรียแบบ Vegetative cells และ Germinating spores สำหรับวิธีทำการศึกษาในงานวิจัยที่อ้างอิงนี้มีการใช้ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus larvae* จากทั้งแหล่งอ้างอิงมาตรฐานและตัวอย่างภาคสนาม รวมถึงการระบุสายพันธุ์ด้วย ERIC-PCR genotyping แล้วนำไปทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ในสภาวะ pH ต่าง ๆ (5.5 ถึง 7.2) และได้วิเคราะห์ความไวของเซลล์แบคทีเรียทั้งแบบ

vegetative cells และ germinating spores สำหรับผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ 10-HDA ขึ้นอยู่กับค่า pH โดย 10-HDA มีประสิทธิภาพมากที่สุดที่ pH 5.5 โดย MIC 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ และประสิทธิภาพลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น (MIC สูงกว่า 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ที่ pH 7.2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 10-HDA ในรูปแบบที่ไม่แตกตัว (unionized) มีฤทธิ์ต้านจุลชีพมากกว่า อีกทั้งยังมีความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ ERIC I และ ERIC II มีความไวต่อ 10-HDA สูงกว่าสายพันธุ์ ERIC III และ ERIC IV และ Germinating spores ของแบคทีเรียมีความไวต่อ 10-HDA มากกว่า Vegetative cells ในส่วนของกลไกที่คาดว่าเกิดจากการออกฤทธิ์ของ 10-HDA คือการลด pH ในลำไส้ตัวอ่อนผึ้ง ช่วยเพิ่มฤทธิ์ของ 10-HDA ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย และการรวมตัวของสารอื่น ๆ ในนมผึ้ง เช่น โปรตีนและสารต้านจุลชีพอื่น ๆ สามารถเสริมฤทธิ์ของ 10-HDA ในการป้องกันการติดเชื้อในตัวอ่อนผึ้ง (Sedivá et al., 2018) ต่อมาเป็นศึกษาผลของ 10-Hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ในนมผึ้งต่อการแสดงออกของยีน *gtfB* และ *gtfC* ใน *Streptococcus mutans* ที่ทำให้เกิดโรคในช่องปากโดยในการศึกษานี้จะวิเคราะห์ความสามารถของ 10-HDA ในการลดการยึดเกาะของ *Streptococcus mutans* บนพื้นผิวเซลล์ eukaryotic สำหรับวิธีการทำการศึกษาดังกล่าวโดยใช้ 10-HDA บริสุทธิ์ที่ได้จากสมาคมผึ้งและสัตว์แพทย์ของประเทศอิหร่าน ทดสอบกับ *Streptococcus mutans* ที่เข้มข้น 100–1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ สำหรับการประเมินผลจะมีวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *gtfB* และ *gtfC* ด้วย Real-Time RT-PCR และวิเคราะห์ระดับโปรตีนของ *gtfB* และ *gtfC* ด้วย Western blot อีกทั้งยังทดสอบความสามารถของ *Streptococcus mutans* ในการยึดเกาะเซลล์ P19 (เซลล์ตัวอ่อนมะเร็งของหนูทดลอง) ในส่วนของผลการศึกษาพบว่าผลต่อการแสดงออกของ *gtfB* และ *gtfC* ที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ของ 10-HDA มีการยับยั้งการแสดงออกของยีน *gtfB* และ *gtfC* อย่างสมบูรณ์ในระดับ mRNA โดยยีน *gtfB* และ *gtfC* เกี่ยวข้องกับการสร้าง glucan polymers ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีผลต่อความสามารถในการยึดเกาะของ *Streptococcus mutans* โดย 10-HDA ลดการยึดเกาะของ *Streptococcus mutans* ต่อเซลล์ P19 อย่างมีนัยสำคัญสถิติที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ลดการยึดเกาะลง 59% และที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ลดการยึดเกาะลง 61% สุดท้ายเป็นผลการทดสอบระยะเวลาที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Time-kill Assay) พบว่าที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ของ 10-HDA โดยสามารถฆ่า *Streptococcus mutans* ได้ภายใน 8 ชั่วโมง โดยลดจำนวน CFU มากกว่า 3 log สำหรับกลไกการทำงาน พบว่า 10-HDA จะไปยับยั้งการแสดงออกของ *gtfB* และ *gtfC* ในระดับ mRNA และโปรตีน และลดการสร้าง glucan polymers ที่จำเป็นสำหรับการสร้างไบโอฟิล์ม อีกทั้งยังลดการยึดเกาะของ *Streptococcus mutans* บนพื้นผิวเซลล์ Eukaryotic การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ 10-HDA ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในช่องปาก เช่น น้ำยาบ้วนปากหรือยาสีฟัน เพื่อควบคุมการเกิดฟันผุในอนาคต (Yousefi et al., 2012) ต่อมาเป็นการศึกษาที่

ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของนมผึ้งต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก, แกรมลบ และเชื้อรา โดยวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของนมผึ้ง เช่น Hydrocarbon และ Sterols เพื่อค้นหาสารออกฤทธิ์ที่มีศักยภาพทางชีวภาพ ในส่วนของวิธีการศึกษาจะใช้ตัวอย่างนมผึ้งที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติในอียิปต์ (ฤดูที่มี Camphor และ Citrus) และประเทศจีน จากนั้นเตรียมสารสกัดนมผึ้ง 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 5, 10, 15 mg/mL ต่อมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยใช้วิธี Agar well diffusion ทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* สู้ตายเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* และ *Syncephalastrum racemosum* หลังจากนั้นการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) วิเคราะห์ Hydrocarbons และ Sterols สำหรับผลการศึกษาพบว่านมผึ้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* สูง โดยเฉพาะตัวอย่างนมผึ้งฤดูที่มี Citrus ที่ค่า MIC เท่ากับ 7.81–15.63 µg/mL และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* เฉพาะที่ความเข้มข้นสูง โดย MIC 500 µg/mL สำหรับ *Escherichia coli* ส่วนเชื้อรา พบว่านมผึ้งมีฤทธิ์ต้าน *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* และ *Candida albicans* แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อ *Syncephalastrum racemosum* ในส่วนของการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของนมผึ้ง พบว่ามี Hydrocarbon สูง (84.5–90.4%) และ Sterols ต่ำ (2.99–3.94%) ส่วน Hydrocarbon หลักคือ N-Tetracosane (39.66–44.05%) และ Sterols หลักคือ β -Sitosterol และ Stigmasterol ในส่วนปัจจัยที่ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านจุลชีพคือฤทธิ์นมผึ้งแตกต่างกันตามแหล่งที่มา ได้แก่ ประเทศอียิปต์ และประเทศจีน และส่วนประกอบทางเคมี นอกจากนี้ตัวอย่างนมผึ้งจากฤดูกาลที่มี Citrus จะมีฤทธิ์สูงสุด ซึ่งอาจมาจากความเข้มข้นของ Hydrocarbon และ Sterols ที่แตกต่างกันนั่นเอง โดยจากงานวิจัยข้างต้นนี้สามารถนำความรู้ที่ได้มาพัฒนายาต้านจุลชีพสำหรับการรักษาแผลติดเชื้อแบคทีเรียอย่าง *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ได้ (Moselhy et al., 2013) ต่อมาเป็นงานวิจัยของ Uthaibutra et al., (2023) ได้ทำงานวิจัยในนมผึ้งจากภาคเหนือของไทย ถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคผิวหนัง ซึ่งได้ผลการศึกษาว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Cutibacterium acne*, *Staphylococcus aureus* รวมถึงสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) แต่ในส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอย่าง *Pseudomonas aeruginosa* ยังทำได้ไม่ดีเมื่อไปเทียบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนในด้านความงามทางผิวหนังก็พบว่านมผึ้งช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น ด้านการอักเสบของผิวหนัง ช่วยสมานแผล และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคทางผิวหนังอย่าง *Staphylococcus aureus* อีกด้วย

โดยจากการทบทวนวรรณกรรมในครั้งนี้นพบว่า นมผง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Staphylococcus saprophyticus* และ *Streptococcus mutans* เป็นต้น อีกทั้งยังรวมไปถึงเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอย่าง *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อราอย่าง *Aspergillus oryzae* ได้อีกด้วยซึ่งโดยส่วนใหญ่งานวิจัยต่าง ๆ ของนมผงได้ผลดีในเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ (Uthaibutra et al., 2023; Moselhy et al., 2013)

2.3 ข้อมูลการเก็บรักษาเพื่อคงคุณภาพของนมผง

จากการทบทวนวรรณกรรมเบื้องต้นพบว่านมผงมีคุณสมบัติประโยชน์มากมาย แต่ถ้าหากเราไม่ได้นำไปใช้ในทันทีก็ควรมีวิธีการเก็บรักษาที่จะคงคุณภาพของนมผงให้ยังมีคุณประโยชน์อยู่ โดยพบว่าการศึกษาของ Sagona et al. (2022) ได้ทำการวิจัยผลกระทบของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 4°C และ -18°C ต่อคุณภาพของเอนไซม์ในนมผงในช่วงเวลาต่าง ๆ โดยในงานวิจัยนี้จะระบุเอนไซม์ที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดความสด (Freshness markers) ของนมผงระหว่างการเก็บรักษา สำหรับวิธีการศึกษาได้ทำการทดสอบตัวอย่าง นมผงที่เก็บจากปี ค.ศ. 2017 ถึง 2021 ด้วยการเก็บรักษา ที่ Refrigeration ที่อุณหภูมิ 4°C และ Deep-freezing ที่อุณหภูมิ -18°C โดยวัดคุณภาพเอนไซม์ดังต่อไปนี้ Glucose oxidase, Proteases และ Antioxidant enzymes สำหรับผลการศึกษาที่ได้พบว่าเอนไซม์ Glucose oxidase มีคุณภาพลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 ปี โดยลดลงถึง 77% ส่วนการเก็บที่อุณหภูมิ -18°C ช่วยรักษาคุณภาพได้ดีกว่า แม้หลังจากผ่านไป 1 ปี ต่อมาคือเอนไซม์ Carboxypeptidase A-like พบว่ามีการลดลงในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C หลัง 1 ปี แต่คงที่ในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ -18°C และเอนไซม์ Trypsin-like activity พบว่าเพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C หลัง 1 ปี และไม่เปลี่ยนแปลงในตัวอย่างที่เก็บที่ -18°C สุดท้ายคือเอนไซม์ Antioxidant enzymes พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมในทุกสภาวะการเก็บรักษา ในส่วนของปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพนมผง ได้แก่ อุณหภูมิ โดยการเก็บที่อุณหภูมิ -18°C ช่วยรักษากิจกรรมของเอนไซม์ได้ดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C และระยะเวลา โดยความสดของนมผงลดลงชัดเจนหลังจากผ่านไป 1 ปี โดยเฉพาะในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C จากงานวิจัยดังกล่าวสรุปผลการทดลองว่าการเก็บนมผงที่อุณหภูมิ -18°C เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ในการรักษาคุณภาพของเอนไซม์ต่าง ๆ และหากมีการใช้งานในเชิงพาณิชย์ การเก็บนมผงในระบบแช่แข็งเหมาะสมกว่าเพื่อรักษาคุณภาพในระยะยาว ต่อมาเป็นงานวิจัยของ

Boselli et al. (2005) โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาว่า กรดอะมิโนเสรี (Free Amino Acids; FAA) ในนมผงจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิต่าง ๆ โดยวัดที่อุณหภูมิ 4°C และ อุณหภูมิห้อง 25°C เป็นเวลานานถึง 10 เดือน จากผลการศึกษาระบุว่ากรดอะมิโนหลักในนมผงไม่ว่าจะเป็น Proline และ Lysine เป็นกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดที่สุดในนมผง และกรดอะมิโนอื่น ๆ เช่น Glutamate, Serine, β -Alanine ที่พบในปริมาณน้อย ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C นั้น FAA คงที่เกือบทั้งหมดโดยไม่เปลี่ยนแปลงมาก และกระบวนการเสื่อมสภาพ เช่น ปฏิกิริยา Maillard Reaction เกิดขึ้นน้อยมาก ส่วนคุณภาพของนมผงเดิมแม่เก็บถึง 10 เดือน ต่อมาคือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่า FAA เช่น Proline และ Lysine เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 3 เดือนแรก แต่ลดลงหลังจาก 6 เดือน และ FAA อื่น ๆ เช่น Serine ลดลงอย่างต่อเนื่อง เพราะอุณหภูมิสูงเร่งกระบวนการเสื่อมสภาพ ทำให้ FAA ถูกทำลายจากปฏิกิริยา Maillard Reaction จึงได้ข้อสรุปว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ช่วยคงคุณภาพของกรดอะมิโนในนมผงได้ดีกว่าอุณหภูมิห้อง เนื่องจากอุณหภูมิห้องทำให้นมผงเสื่อมคุณภาพเร็วขึ้น โดย FAA ลดลงและเกิดปฏิกิริยา Maillard Reaction มากขึ้น ดังนั้นหากต้องการเก็บรักษานมผงให้คงคุณภาพ ควรเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C หรือในอุณหภูมิที่เย็นลงกว่านี้ ต่อมาเป็นการศึกษาของ Ciulu et al. (2015) โดยได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสาร 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF) ในนมผง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ -18°C, 4°C และ 25°C เป็นเวลา 9 เดือนและได้ประเมินความเหมาะสมของ HMF ในการเป็นตัวชี้วัดความสดของนมผง สำหรับวิธีการศึกษาได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณ HMF ในนมผงด้วยการใช้เทคนิค RP-HPLC ที่พัฒนา และผ่านการตรวจสอบคุณภาพแล้วเก็บตัวอย่างนมผงที่อุณหภูมิ -18°C, 4°C และ 25°C และวัดปริมาณ HMF ทุก 30, 90, 180 และ 270 วัน ในส่วนของผลการศึกษาพบว่าปริมาณ HMF ในสภาวะเก็บรักษาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ -18°C และ 4°C ไม่สามารถตรวจพบ HMF ตลอดระยะเวลา 9 เดือน (ต่ำกว่า Limit of Detection, LOD) แต่ที่อุณหภูมิ 25°C (อุณหภูมิห้อง) พบว่า HMF เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีการเพิ่มขึ้นในลักษณะ Exponential และหลัง 30 วัน HMF เริ่มตรวจพบในปริมาณ 0.4 ± 0.1 mg/kg สุดท้ายหลัง 270 วัน HMF สูงถึง 1.9 ± 0.5 mg/kg กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ HMF พบว่าการเพิ่มของ HMF เกิดจากกระบวนการ Maillard Reaction ระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเก็บรักษานมผงที่อุณหภูมิสูง โดย HMF จะไม่พบในนมผงสด และตรวจพบเมื่อมีการเสื่อมสภาพเท่านั้น จึงเหมาะสมที่จะใช้ HMF เป็นตัวชี้วัดความสดและคุณภาพของนมผง จากงานวิจัยจึงสรุปได้ว่าการเก็บรักษานมผงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4°C ช่วยรักษาความสดและลดการเกิด HMF ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ HMF สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดความสด (Freshness Marker) ของนมผง เนื่องจากสารนี้เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยแนะนำให้เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4°C เพื่อลดการเสื่อมสภาพของนมผง ต่อมาเป็นการศึกษาของ Hu et al. (2021) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติด้านจุลชีพและโปรตีนใน

นมผึ้ง ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C , 25°C (อุณหภูมิห้อง) และ 37°C โดยสำหรับวิธีการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของนมผึ้งต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ส่วนแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Paenibacillus larvae* นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์โปรตีนนมผึ้งด้วยเทคนิค Proteomics (HPLC-MS/MS) และ Western Blotting และประเมินความเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนนมผึ้ง ด้วย Surface Plasmon Resonance (SPR) สำหรับผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในนมผึ้งที่เก็บที่อุณหภูมิ -20°C และ 4°C คงประสิทธิภาพต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีส่วนที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และ 37°C มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียลดลงอย่างรวดเร็ว โดยหากเก็บที่ 37°C นาน 2 วัน ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียลดลงเกือบหมด ส่วนการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนนมผึ้งพบว่า โปรตีนที่สำคัญ เช่น MRJP3, MRJP4, MRJP5 และเอนไซม์ เช่น glucose oxidase เสื่อมสภาพเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บสูงและนานขึ้น จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวกับการเก็บรักษานมผึ้งเพื่อคงคุณภาพไว้ได้ พบว่าควรเก็บรักษานมผึ้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4°C และไม่ควรเก็บไว้นานเกินไปเนื่องจากยิ่งเก็บนานคุณภาพของนมผึ้งมีโอกาสดลดลงเรื่อย ๆ

2.4 ข้อมูลแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

2.4.1 แนวทางการรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง

เป็นแนวทางการรักษาจาก Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft Tissue Infections 2014 Update by The Infectious Diseases Society of America (IDSA) ซึ่งรวบรวมการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนังตั้งแต่เชื้อธรรมดาไปจนถึงการติดเชื้อที่รุนแรงเช่น Necrotizing Fasciitis โดยมีหลักการสำคัญดังนี้ คือการประเมินและการวินิจฉัย การตรวจร่างกาย และการตรวจหาเชื้อ เช่น การเพาะเชื้อหรือการย้อมแกรม ทำเฉพาะในกรณีที่น่าเป็น เช่น การติดเชื้อที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาเบื้องต้น หรือในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง สำหรับการรักษาตามระดับความรุนแรง เช่น หากมีการติดเชื้อที่มีหนอง (Purulent Skin and Soft Tissue Infections; SSTIs) ขั้นต้นให้ผ่าระบายหนอง (Incision and Drainage) เป็นการรักษาหลัก และใช้ยาปฏิชีวนะเฉพาะในกรณีที่มีอาการระบบ เช่น ไข้ หรือภาวะภูมิคุ้มกันต่ำยาที่แนะนำใช้ยา Clindamycin, Trimethoprim-Sulfamethoxazole (TMP-SMX), หรือ Doxycycline ในกรณีต้องครอบคลุม MRSA ส่วนการติดเชื้อที่ไม่มีหนอง (Non-Purulent Skin and Soft Tissue Infections; SSTIs) ให้ใช้ยาปฏิชีวนะที่ครอบคลุมเชื้อกลุ่ม *Streptococcus* เป็นหลักสำหรับผู้ป่วยที่มีความเสี่ยง MRSA ให้พิจารณา Vancomycin หรือยา Linezolid สุดท้ายใน

การรักษาการติดเชื้อรุนแรง เช่น การติดเชื้อเนื้อเยื่อลึก (Necrotizing Fasciitis) ให้ผ่าตัดล้างแผลและกำจัดเนื้อเยื่อที่ตาย ใช้ยาครอบคลุมหลากหลายเชื้อ เช่น ยากลุ่ม Penicillin ร่วมกับยา Clindamycin ในกรณี MRSA ใช้ ยา Vancomycin หรือยา Linezolid สำหรับการดูแลรักษาเบื้องต้นคือหลังการล้างมือและสุขอนามัยส่วนบุคคล ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อซ้ำ ควรใช้ยาทำความสะอาดเฉพาะจุด เช่น Mupirocin หรืออาบน้ำด้วย Chlorhexidine ส่วนแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อทางผิวหนังนี้เน้นการรักษาแบบเฉพาะเจาะจง และการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างเหมาะสมเพื่อลดการดื้อยา โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เสี่ยงเกิดภาวะแทรกซ้อน

2.4.2 แนวทางการรักษาโรคติดเชื้อสิว

จาก Guidelines of care for the management of acne vulgaris ของ American Academy of Dermatology 2024 ได้มีการระบุสาเหตุหลักของการเกิดสิว่ามี 4 ปัจจัย ได้แก่ การผลิตน้ำมันส่วนเกิน (Sebum Overproduction), ต่อมไขมัน (Sebaceous Glands) ผลิตไขมันมากเกินไปเนื่องจากฮอร์โมนแอนโดรเจน (Androgens) ที่เพิ่มขึ้นมักพบในช่วงวัยรุ่น, ฮอร์โมนแอนโดรเจนกระตุ้นการทำงานของต่อมไขมันที่มากเกินไปทำให้ไขมันสะสมในรูขุมขน มีการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคคือ *Cutibacterium acnes* (เดิมชื่อ *Propionibacterium Acnes*) สำหรับการอุดตันของรูขุมขน (Follicular Hyperkeratinization) เซลล์ผิวหนังที่ตายสะสมรวมกับไขมันเกิดการอุดตันของรูขุมขน ส่งผลทำให้เกิดสิวหัวขาว (Closed Comedones) และสิวหัวดำ (Open Comedones) เป็นกระบวนการเริ่มต้นของการเกิดสิว ในส่วนของการติดเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* นั้นสามารถเจริญเติบโตในรูขุมขนที่อุดตันซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แบคทีเรียผลิตเอนไซม์และสารกระตุ้นการอักเสบ เช่น Lipase สารเหล่านี้กระตุ้นให้เกิดการแตกของผนังรูขุมขนและการอักเสบแพร่กระจาย ส่วนการอักเสบ (Inflammation) เป็นกระบวนการอักเสบเกิดจากปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Cutibacterium acnes* ส่งผลให้เกิดสิอักเสบ เช่น ตุ่มแดง (Papules) และตุ่มหนอง (Pustules) สุดท้ายเป็นปัจจัยกระตุ้นอื่น ๆ เช่น ฮอร์โมนแอนโดรเจนในวัยรุ่นหรือภาวะฮอร์โมนไม่สมดุล เช่น Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) ซึ่งจะทำให้สิวแย่ลง อาหารที่มีน้ำตาลสูงหรือผลิตภัณฑ์นมที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดสิวในบางกรณี และพันธุกรรมก็มีผลต่อการทำงานของต่อมไขมันและแนวโน้มการเกิดสิว เครื่องสำอางผลิตภัณฑ์ที่อุดตันรูขุมขน (Comedogenic Products) ความเครียดส่งผลต่อฮอร์โมนและกระตุ้นการอักเสบ สิ่งแวดล้อม ความร้อน ความชื้น หรือการสัมผัสสารระคายเคืองผิว หรืออาจเกิดจากปัจจัยหลักที่ทำงานร่วมกับการผลิตน้ำมัน การอุดตันรูขุมขน การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และการอักเสบ สำหรับแนวทางการรักษามุ่งเน้นที่การลดปัจจัยเหล่านี้ผ่านการควบคุมไขมันและการอุดตัน การลดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว และการลดการอักเสบที่บริเวณผิวหนัง (Reynolds et al., 2024)

สำหรับแนวทางการรักษาสิว มีการใช้รูปแบบแนวทางการรักษาจาก Guidelines of care for the management of acne vulgaris ของ American Academy of Dermatology 2024 ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในระดับสากล โดยมีรายละเอียดตามระดับความรุนแรงและลักษณะของสิวดังนี้ การรักษาด้วยยาทา (Topical Therapy) ได้แก่ เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (Benzoyl Peroxide) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการลดเชื้อและการอักเสบ โดยใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อลดโอกาสการดื้อยา หรือเรตินอยด์ (Retinoids) เช่น Adapalene, Tretinoin ใช้เพื่อควบคุมการเกิดสิวดูตันและลดการอักเสบ และยาปฏิชีวนะชนิดทาภายนอก (Topical Antibiotics) เช่นยา Clindamycin โดยจะใช้ร่วมกับ Benzoyl Peroxide เพื่อลดโอกาสการดื้อยานั้นเอง ซึ่งยา Clindamycin ถือว่าเป็น Gold standard ในส่วนของยาปฏิชีวนะชนิดทาภายนอกที่ใช้สำหรับรักษาสิว และกรดซาลิไซลิก (Salicylic Acid) ที่ช่วยลดสิหัวดำและลดการอักเสบ ต่อมาคือการรักษาด้วยยารับประทาน (Systemic Therapy) ได้แก่ ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทาน (Oral Antibiotics) ใช้กรณีสิวกว้างถึงรุนแรง โดยยาที่แนะนำ ได้แก่ Doxycycline, Minocycline หรือ Isotretinoin สำหรับสิวกว้างหรือกรณีที่มีการรักษาอื่นล้มเหลว แต่ต้องมีการติดตามผลข้างเคียงอย่างใกล้ชิด ต่อมาที่ใช้ได้คือฮอร์โมนบำบัด (Hormonal Therapy) เช่น ยาคุมกำเนิดชนิดผสม และ Spironolactone ใช้ในผู้หญิงที่มีสิวกจากปัจจัยฮอร์โมน สามารถทำร่วมกับการรักษาด้วยวิธีอื่น (Physical and Alternative Therapy) เช่น การกดสิว การลอกผิวด้วยกรด (Chemical Peels) หรือการรักษาด้วยแสง (Light Therapy) อาจใช้ในบางกรณี การรักษาเสริม เช่น Azelaic Acid หรือ สมนไพรในกรณีสิวกไม่รุนแรงสำหรับแนวทางป้องกันการดื้อยาจำกัดการใช้ยาปฏิชีวนะในระยะยาว ควรใช้ยาผสมที่มีหลายกลไก (Combination Therapy) เช่น Benzoyl Peroxide + Antibiotics เพื่อลดโอกาสการดื้อยา ซึ่งการเลือกวิธีรักษาควรได้รับการพิจารณาตามความระดับรุนแรงของสิว และควรวิเคราะห์สภาพผิวร่วมกับการต้องการของผู้ป่วยโดยควรติดตามผลการรักษาและปรับเปลี่ยนตามความเหมาะสม (Reynolds et al., 2024)

2.5 ข้อมูลการรายงานสถานการณ์การดื้อยา

2.5.1 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

โดยเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* สามารถก่อให้เกิดเชื้อดื้อยา Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ได้ ซึ่งเชื้อนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม สำหรับกลไกการดื้อยานั้นเกิดจากการดัดแปลงโปรตีนจับยา (Penicillin-Binding Protein; PBP2a) และการแสดงออกของ mecA gene ซึ่งสร้างโปรตีนที่ไม่สามารถจับกับ Beta-lactams ได้ทำให้ MRSA

สามารถเจริญเติบโตได้แม้ในสภาวะที่มียาปฏิชีวนะ และยังพบอีกว่าเกิดจากการผลิตเอนไซม์ Beta-lactamase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลายโครงสร้างของยาในกลุ่ม Beta-lactams ได้ หรืออาจเป็นการดื้อยาแบบหลายกลไก คือ เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ใช้ปั๊มขับยา (Efflux Pumps) เพื่อลดความเข้มข้นของยาภายในเซลล์ และเกิดการกลายพันธุ์ใน DNA Gyrase ทำให้ดื้อต่อยาในกลุ่ม Fluoroquinolones โดยสามารถแบ่งประเภทการติดเชื้อของ MRSA ได้ 3 ประเภทหลัก ๆ ได้แก่ HA-MRSA (Hospital-Acquired) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในโรงพยาบาล, CA-MRSA (Community-Acquired) เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในชุมชน และ LA-MRSA (Livestock-Acquired) เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อจากสัตว์สู่มนุษย์ โดยเชื้อแบคทีเรีย MRSA เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน โดยต้องการการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่มีความเฉพาะเจาะจงในส่วนผลกระทบของการดื้อยาคือการรักษาล้มเหลว ได้แก่ ผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA มักไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะทั่วไป ทำให้ต้องใช้ยาที่มีราคาแพงกว่าและมีผลข้างเคียงได้มากขึ้น (George et al., 2022)

2.5.2 เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes เป็นเชื้อแกรมบวก รูปกลมต่อเป็นสายยาว สามารถก่อให้เกิดโรคในระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้หลากหลาย เช่น คออักเสบ, ผิวหนังอักเสบ, แผลพุพอง และการติดเชื้อที่เนื้อเยื่อลึกของผิวหนัง แม้ว่า *Streptococcus pyogenes* จะยังไวต่อยา Penicillin แต่มีการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides และ Clindamycin ที่พบอัตราการดื้อยาสูงในบางประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา พบอัตราการดื้อยา Clindamycin ประมาณ 20% และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในแถบยุโรป และเอเชีย พบอัตราการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides สูงถึง 50%-94% โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศจีน โดยการดื้อยา Clindamycin และ Macrolides พบสูงในเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง เช่น การติดเชื้อที่เนื้อเยื่อลึกของผิวหนัง สำหรับกลไกการดื้อยาสามารถเกิดได้ดังนี้ การดื้อต่อยาในกลุ่ม Macrolides และ Clindamycin ส่วนใหญ่เกิดจากการได้รับยีน *erm* (erythromycin ribosomal methylase) ซึ่งส่งผลให้ไรโบโซมของแบคทีเรียถูกดัดแปลง ซึ่งยีน *erm* สามารถทำให้เชื้อดื้อต่อยาในกลุ่ม Macrolides เช่น Erythromycin และ Lincosamides เช่น Clindamycin โดยรูปแบบการดื้อนี้เรียกว่า MLSb phenotype ต่อมาเป็นการดื้อยาต่อยาในกลุ่ม Macrolides เกิดจากการทำงานของปั๊มขับยา (Efflux Pumps) ที่ช่วยขับยาออกจากเซลล์ ทำให้ยาไม่สามารถทำงานได้ การกลายพันธุ์ของไรโบโซม ซึ่งการดื้อยาสามารถเกิดจากการเปลี่ยนแปลงในยีนที่ควบคุมโครงสร้างของไรโบโซม ทำให้ยาปฏิชีวนะนั้นไม่สามารถจับกับเป้าหมายได้ ในส่วนผลกระทบของการดื้อยาทำให้ผลการรักษามีโอกาสล้มเหลวได้ และการดื้อยาใน *Streptococcus pyogenes* ส่งผลให้การรักษาโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น Toxic Shock Syndrome หรือ Necrotizing Fasciitis ไม่ประสบความสำเร็จ ซึ่งการรักษาร่วมระหว่างยาในกลุ่ม Penicillin และยา Clindamycin มักเป็นมาตรฐานในการรักษาการติดเชื้อรุนแรง

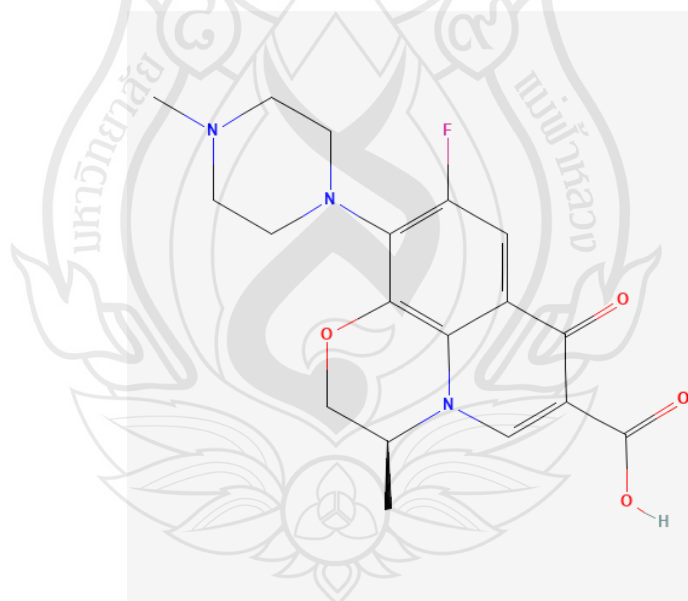
แต่ปัญหาการดื้อยา Clindamycin นั้นเพิ่มความเสี่ยงของการล้มเหลวรวมไปถึงการแพร่กระจายของเชื้อที่ดื้อยา โดยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes* ที่ดื้อต่อยา Clindamycin และยาในกลุ่ม Macrolides สามารถแพร่เชื้อโรคเข้าสู่ชุมชนและโรงพยาบาล ทำให้การควบคุมการติดเชื้อซับซ้อนยิ่งขึ้น ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อดื้อยา *S. pyogenes* มีประสิทธิภาพลดลง และจำเป็นต้องใช้ยาทางเลือกที่มีราคาสูงขึ้นหรือมีผลข้างเคียงมากขึ้น เช่นยา Linezolid และยา Vancomycin (George et al., 2022)

2.5.3 เชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* (เดิมชื่อ *Propionibacterium acnes*)

Cutibacterium acnes จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งที่ไม่พึ่งออกซิเจน (Gram positive anaerobic bacilli) สามารถพบตามธรรมชาติในรูขุมขนและต่อมไขมันบนผิวหนังและผิวบางส่วน ซึ่งตัวเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิด สิว (Acne Vulgaris) ผ่านการกระตุ้นการอักเสบและอุดตันของรูขุมขน สำหรับการรักษาสิวในปัจจุบันพบว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะ เช่นยา Clindamycin และยา Doxycycline อย่างแพร่หลายเพื่อใช้ในการรักษาสิว เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและลดการอักเสบ สถานการณ์การดื้อยาการใช้ยาปฏิชีวนะในระยะยาวส่งผลให้ *Cutibacterium acnes* ดื้อต่อยาในหลายประเทศดังนี้ การดื้อยา *Cutibacterium acnes* รายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1970 หลังการใช้ Erythromycin และ Clindamycin ในปี ค.ศ. 1990 อัตราการดื้อยาเพิ่มขึ้นถึง 62% ทั่วโลก ในปัจจุบัน 25%-50% ของผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะสำหรับรักษาสิว พัฒนาเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยา โดยเฉพาะในกลุ่ม Macrolides เช่น Erythromycin และ Lincosamides เช่น Clindamycin สำหรับกลไกการดื้อยา Clindamycin และ Macrolides เกิดจากการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งจับยาบนไรโบโซม โดยยีน *erm* (erythromycin ribosomal methylase) ช่วยให้เกิดการดัดแปลงไรโบโซม ทำให้แบคทีเรียนั้นดื้อต่อยากลุ่ม Macrolides และยา Clindamycin ลักษณะดื้อยานี้เรียกว่า Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B (MLSb) phenotype ต่อมาการดื้อต่อ Tetracyclines เกิดจากการกลายพันธุ์ในยีน 16S rRNA ซึ่งเป็นตำแหน่งจับยาบนไรโบโซมการทำงาน of Efflux Pumps ซึ่งเป็นกลไกในการขับยาออกจากเซลล์ ทำให้ยาสูญเสียประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนยีนดื้อยา ผลกระทบของการดื้อยา ได้แก่ การรักษาไม่สำเร็จ และการดื้อยาใน *Cutibacterium acnes* ทำให้การรักษาสิวมีประสิทธิภาพลดลง ส่งผลให้สิวไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะทั่วไป การดื้อยาอาจทำให้ต้องใช้ยาปฏิชีวนะที่มีศักยภาพสูงขึ้น เช่น ยา Linezolid ซึ่งมีความเสี่ยงผลข้างเคียงเพิ่มขึ้น อีกทั้งหากใช้ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง เช่น ยา Doxycycline ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในร่างกายโดยผิวหนังก็จะเกิดการเสียสมดุลของจุลินทรีย์ที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อ อีกทั้งยังมีการรายงานการเปลี่ยนแปลงของไมโครไบโอมในลำไส้ซึ่งอาจนำไปสู่โรคอื่น ๆ ได้อีกด้วย และยังสามารถทำให้เกิดการดื้อยาข้ามกลุ่มในผู้ป่วยสิวที่ใช้ยา Clindamycin หรือ Doxycycline อาจส่งเสริมการดื้อยาในเชื้อ แบคทีเรียอื่น เช่น *Staphylococcus aureus* หรือ

Group A *Streptococcus* (George et al., 2022) อีกทั้งมีการศึกษาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ในประเทศแถบเอเชียอีกด้วยว่า ในประเทศเกาหลีพบอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะที่ใช้ทาภายนอกรักษาสิว คือ ยา Clindamycin และยา Erythromycin โดยอัตราการดื้อยาเหล่านี้เท่ากับ 30% และ 26.7% ตามลำดับ และยังมีรายงานการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ในประเทศฮ่องกง พบว่ามีการดื้อยา Clindamycin และยา Erythromycin โดยอัตราการดื้อยาเหล่านี้เท่ากับ 53.5% และ 20.9% ตามลำดับ (Dessinioti et al., 2017) ดังนั้นแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมาล้วนก่อให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขเนื่องจากบางตัวเป็นเชื้อดื้อยาไปแล้วทำให้การรักษายากขึ้นส่วนบางตัวกำลังพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยาโดยเฉพาะดื้อต่อยา Clindamycin ที่อุบัติการณ์การดื้อยานี้เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ดังนั้นจึงค้นหาที่เป็น Broad spectrum (ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง) เพื่อนำมาทำเป็น Positive control (กลุ่มควบคุมบวก) ซึ่งเป็นกลุ่มที่คาดหวังว่าปรากฏการณ์ที่เป็นผลลัพธ์จะเกิดขึ้นแน่นอน จึงได้มาเป็นยา Levofloxacin ซึ่งมีรายงานว่ายาตัวนี้มีแนวโน้มการดื้อต่อ *C. acnes* ลดลงในช่วงปี ค.ศ. 2015-2023 (จาก 10.8% เหลือ 1.4%) แต่ยา Clindamycin และ Erythromycin มีอัตราการดื้อยาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Beig et al., 2024)

2.5.4 ยา Levofloxacin



ที่มา PubChem (2015)

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของยา Levofloxacin

ชื่อสามัญทางยา คือ ยา Levofloxacin เป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะ Fluoroquinolone antibiotics

รูปแบบยามีทั้ง ยาเม็ด, ยาฉีด และยาหยอดตา ในส่วนของกลไกการออกฤทธิ์ ยา Levofloxacin จะไปยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase และ Topoisomerase IV ซึ่งจำเป็นต่อการจำลองและซ่อมแซม DNA ของแบคทีเรีย เป็นยาที่สเปกตรัมการออกฤทธิ์กว้าง (Broad-spectrum) ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก, แกรมลบ และแบคทีเรียไม่พึ่งออกซิเจนบางชนิด (Sanford Guide, 2024)

ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) จาก The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2020 โดยเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* มีค่า MIC ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ และค่า Zone diameter breakpoint อยู่ที่ ≥ 19 mm ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes* มีค่า MIC ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ และค่า Zone diameter breakpoint อยู่ที่ ≥ 17 mm

ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ยังไม่มีข้อมูลการใช้ยา Levofloxacin ในแนวทางการรักษาโรคติดเชื้อ *C. acnes* แต่ยา Levofloxacin นั้นสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียตัวนี้ได้ และมีรายงานว่ายาตัวนี้มีแนวโน้มการติดต่อ *C. acnes* ลดลง ดังนั้นจึงหาข้อมูลค่า MIC มาจากงานวิจัย โดยมีการใช้ Disk ของยา Levofloxacin 5 μg และพบว่า ค่า MIC breakpoint ของยา Levofloxacin อยู่ที่ 0.25-0.5 $\mu\text{g/ml}$ (Roudeau et al., 2024; Salar-Vidal et al., 2022)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนมผึ้งและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากงานวิจัยของ Uthaibutra et al. (2023) ได้ศึกษาคุณสมบัติของนมผึ้ง (Royal Jelly, RJ) จากภาคเหนือของประเทศไทยในด้านฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนัง, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ขอมุ่งเน้นไปที่ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผึ้ง สำหรับวิธีการศึกษาของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้ทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion และ Broth dilution ต่อเชื้อที่ก่อโรคผิวหนัง โดยแบ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Cutibacterium acnes*, MRSA, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Corynebacterium spp.* นอกจากนี้ยังมีเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* จากผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของนมผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแกรมบวก เช่น *Cutibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* รวมถึง MRSA ได้สูง และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Pseudomonas aeruginosa* ที่ต่ำกว่าโดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 18.75–150 mg/mL และตัวอย่างนมผึ้งจากเชียงใหม่ (RJ-CM1) และลำพูน (RJ-LP1) มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยสรุปได้ว่านมผึ้งจากภาคเหนือของไทย โดยเฉพาะจากเชียงใหม่และลำพูนมีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คุณสมบัติเหล่านี้สามารถชี้ให้เห็นถึงศักยภาพในการพัฒนานมผึ้งเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและยา เช่น ครีมรักษาแผลผิวหนังในอนาคตได้ ต่อมาเป็นการศึกษาของ Moselhy et al. (2013)

โดยศึกษาคุณสมบัติ ด้านจุลชีพ ของนมผึ้ง ที่ผลิตในประเทศอียิปต์ (ฤดูที่มี Camphor และ Citrus) และประเทศจีน ต่อเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของนมผึ้ง โดยเฉพาะ Hydrocarbons และ Sterols เพื่อหาองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ด้านจุลชีพ สำหรับวิธีการศึกษานั้นได้ทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพด้วยวิธี Agar well diffusion และหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ต่อเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา โดยแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* สุดท้ายเชื้อรา ได้แก่ *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* และ *Syncephalastrum racemosum* และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) สำหรับผลการศึกษาระบุว่าฤทธิ์ด้านจุลชีพที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกของนมผึ้งจากฤดูที่มี Citrus เยอะ พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงสุด โดย *Staphylococcus aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 15.63 µg/mL, *Bacillus subtilis* MIC เท่ากับ 7.81 µg/mL ส่วนจากฤดูของ Camphor และประเทศจีนแสดงฤทธิ์ต่ำกว่า ในส่วนของแบคทีเรียแกรมลบ พบว่า จากในฤดูที่มี Citrus เยอะ จะมีฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* มีค่า MIC เท่ากับ 500 g/mL และ *Pseudomonas aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 500 g/mL ซึ่งอยู่ในระดับต่ำ ส่วนเชื้อราพบว่า นมผึ้งจากฤดูที่มี Citrus เยอะ จะแสดงฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* มีค่า MIC เท่ากับ 62.5 g/mL และ *Aspergillus fumigatus* มีค่า MIC เท่ากับ 31.25 g/mL ซึ่งถือว่าออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราได้ดี แต่นมผึ้งไม่มีผลต่อเชื้อรา *Syncephalastrum racemosum* ต่อมาเป็นงานวิจัยของ Bilikova et al. (2015) ได้ศึกษาคุณสมบัติของ Royalisin ซึ่งเป็นเปปไทด์ด้านจุลชีพในนมผึ้ง โดยเน้นที่โครงสร้าง และความสัมพันธ์กับฤทธิ์ที่สามารถต้านจุลชีพ อีกทั้งยังดูบทบาทของโครงสร้างพันธะ Disulfide bonds และส่วนปลาย C-terminal ในการเพิ่มประสิทธิภาพของนมผึ้งสำหรับวิธีการศึกษาจะเริ่มจากผลิตโปรตีน Royalisin และในรูปแบบย่อที่เรียกว่า Royalisin-D ที่ไม่มีส่วนปลาย C-terminal 11 กรดอะมิโน ในเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ทำการทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Paenibacillus larvae* ส่วนแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยทำการวิเคราะห์กลไกการออกฤทธิ์เกี่ยวกับความสามารถในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชอบน้ำของพื้นผิวเซลล์แบคทีเรีย สำหรับผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ด้านจุลชีพ ของ Royalisin มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกสูง โดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 7.5 µg/mL และ *Paenibacillus larvae* มีค่า MIC เท่ากับ 6 µg/mL แต่ฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Salmonella choleraesuis* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีความสามารถในการยับยั้งได้ต่ำกว่า นอกจากนี้พบว่า Royalisin-D มีฤทธิ์ลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ Royalisin แต่ยังคงประสิทธิภาพในระดับที่ยอมรับได้

ส่วนบทบาทของพันธะ Disulfide Bonds ของ Royalisin และ Royalisin-D จะสูญเสียฤทธิ์ด้านจุลชีพเมื่อพันธะ Disulfide ถูกทำลายด้วยสาร Dichlorodiphenyltrichloroethane และพันธะ Disulfide มีบทบาทสำคัญในการคงโครงสร้างและฤทธิ์ด้านจุลชีพของ Royalisin ในส่วนของกลไกการออกฤทธิ์ คาดว่า Royalisin ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียโดยเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeability) และลดความชอบน้ำของพื้นผิวเซลล์แบคทีเรีย (hydrophobicity) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และความสำคัญของส่วนปลาย C-terminal ของ Royalisin-D ที่ไม่มี C-terminal 11 กรดอะมิโน จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อเทียบกับ Royalisin เดิมรูปแบบ และ C-terminal มีบทบาทเสริมความเสถียรและประสิทธิภาพของ Royalisin ข้อสรุปคือ Royalisin เป็นเปปไทด์ต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพสูงต่อแบคทีเรียแกรมบวก อีกทั้งยังมีศักยภาพสำหรับพัฒนาเป็นสารต้านจุลชีพในเชิงการแพทย์ พันธะ Disulfide และส่วน C-terminal มีบทบาทสำคัญในการเสริมฤทธิ์ด้านจุลชีพ การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับโครงสร้างและกลไกการทำงานของ Royalisin อาจช่วยในการพัฒนาเปปไทด์ชนิดใหม่ที่มีศักยภาพสูงขึ้น (Bilikova et al., 2015) ดังนั้นจึงเห็นได้ว่านมผึ้งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีโดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกอย่าง *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ก็ได้ทำการทดลองกับแบคทีเรียแกรมบวกดังกล่าวเช่นกัน โดยคาดหวังว่าจะได้ผลการทดลองเทียบเท่ากับยา Levofloxacin

2.7 การนำนมผึ้งไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย

ในปัจจุบันพบว่า นมผึ้งได้มีการศึกษาวิจัยทั้งในรูปแบบรับประทาน และรูปแบบทาภายนอก โดยมีข้อบ่งใช้ที่แตกต่างกันไป ดังนี้

2.7.1 การศึกษานมผึ้งในรูปแบบรับประทาน

มีการศึกษาความเข้มข้นของนมผึ้งที่ทำให้เกิดพิษ ทำโดยนักวิจัย Kausar and Ram More (2019) ที่หาค่าปริมาณของนมผึ้งที่ทำให้กลุ่มของสัตว์ทดลอง (หนูทดลอง) ร้อยละ 50 ตายลง (LD50) ในการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันโดยผ่านการรับประทาน โดยนมผึ้งนั้นถือเป็นผลิตภัณฑ์จากผึ้งที่มีคุณค่าและประโยชน์ในการรักษาที่ค่อนข้างสูง อีกทั้งยังมีการใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง การอักเสบ และผิวหนัง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดค่าปริมาณของนมผึ้งที่ทำให้สัตว์ทดลองเกิดอัตราการเสียชีวิต 50% (LD50) ของกลุ่มสัตว์ทดลองทั้งหมด ในการทดลองนี้จะใช้หนูทดลองสายพันธุ์ Swiss albino male mice น้ำหนัก 20-25 กรัม โดยแบ่งหนูออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (G1) ได้รับสารละลายน้ำเกลือปกติ และกลุ่มทดลอง (G2-G6) ได้รับนมผึ้ง

ปริมาณ 100, 500, 1000, 2000 และ 5000 mg/kg จากนั้นเฝ้าสังเกตพฤติกรรมและสัญญาณของความเป็นพิษ รวมถึงอัตราการเสียชีวิตของหนู โดยผลการทดลองพบว่า ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ไม่มีหนูทดลองตัวใดแสดงอาการเป็นพิษ แต่เมื่อให้ปริมาณ 2,000 mg/kg พบว่า ในวันที่ 14 หนูทดลองเริ่มมีอาการก้าวร้าว ความอยากอาหารลดลง และมีพฤติกรรมเฉื่อยชา โดยค่า LD50 ตามแนวทางของ OECD 423 เท่ากับ 2,500 mg/kg แต่เมื่อคำนวณตามวิธีของ Karber ที่ได้รับการดัดแปลงโดย Aliu และ Nwude พบว่า LD50 ของนมผงอยู่ที่ 1616 mg/kg ซึ่งนมผงจัดอยู่ใน Category 5 ของ OECD ซึ่งหมายถึง มีความเป็นพิษต่ำมาก ต่อมาเป็นการแปลงค่าระหว่างสายพันธุ์ (Interspecies Dose Conversion) โดยใช้วิธีการของ Derelanko เพื่อคำนวณความเทียบเท่าระหว่างมนุษย์และหนูทดลอง ซึ่งปริมาณ 100 mg/kg ของนมผงในหนูทดลอง เทียบเท่ากับ 8.3 mg/kg ในมนุษย์ และปริมาณ 500 mg/kg ในหนูทดลอง เทียบเท่ากับ 41.6 mg/kg ในมนุษย์ อย่างไรก็ตาม นักวิจัยชี้ให้เห็นว่า การแปลงค่า LD50 ระหว่างสายพันธุ์ยังมีข้อจำกัด และไม่สามารถใช้เป็นค่าประมาณการที่แน่นอนได้ โดยมีข้อสรุปคือ การรับประทานนมผงที่ปริมาณต่ำกว่า 1,000 mg/kg จะไม่ทำให้หนูทดลองเสียชีวิตหรือมีอาการเป็นพิษในช่วงที่รับประทาน 14 วันแรก ดังนั้นหากลองปรับเทียบในมนุษย์การทานนมผงที่มีความเข้มข้นไม่เกิน 83.2 mg/kg/วัน จะช่วยลดโอกาสการเกิดพิษต่อร่างกายได้ สำหรับการศึกษาที่ได้นำนมผงไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ผ่านการรับประทาน ได้แก่ การศึกษาของ Miyata และคณะ (2020) โดยศึกษาผลของนมผงต่อมะเร็งไทรอยะลูกกลม โดยการศึกษาทำในผู้ป่วยมะเร็งไทรอยะลูกกลม (RCC) ที่ได้รับการรักษาด้วยยาแบบมุ่งเป้า (molecular targeted therapy) ซึ่งมีผู้ป่วย 33 ราย แบ่งเป็น กลุ่มที่ได้รับนมผง 16 ราย และ กลุ่มยาหลอก 17 ราย หลังจากนั้นวัดขนาดของเนื้องอกและวัดสารชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น TNF- α และ TGF- β ผลการทดลองระบุว่าผู้ป่วยที่ได้รับนมผงมีขนาดของเนื้องอกลดลงกว่ากลุ่มยาหลอก และกลุ่มที่ได้รับนมผงมีระดับ TNF- α และ TGF- β ซึ่งเป็นสารก่อการอักเสบลดลง สรุปคือนมผงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของยา targeted therapy และลดอาการข้างเคียงในผู้ป่วยมะเร็งไทรอยะ ต่อมาเป็นการศึกษาวิจัยของ Araki และคณะ (2020) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับผลของนมผงในการลดอาการข้างเคียงจาก Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI) ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งไทรอยะลูกกลม โดยการทดลองจะแบ่งผู้ป่วย 30 คน ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ได้รับนมผง ขนาด 800 mg/ครั้ง วันละ 3 ครั้ง (2400 mg/วัน) เป็นเวลา 3 เดือน และกลุ่มยาหลอกจะได้รับแคปซูลแบ่งในปริมาณเท่ากัน ซึ่งวัดผลโดยการเปรียบเทียบอาการข้างเคียงจากยา TKI ระหว่างทั้งสองกลุ่ม จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ากลุ่มที่ได้รับนมผงมีอาการข้างเคียงลดลง เช่น คลื่นไส้ อ่อนเพลีย และเบื่ออาหาร อีกทั้งการวัดตัวชี้วัดทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น TNF- α และ TGF- β ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

และมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนมผงกับการรักษาอาการตาแห้งของ Imada et al. (2014) โดยได้ศึกษาเกี่ยวกับนมผงและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ จากผึ้งกับการรักษาโรคตาแห้งในหนูทดลองที่ถูก

กระตุ้นให้มีภาวะตาแห้ง จากผลการทดลองพบว่า นมผึ้งสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาได้มากกว่าผลิตภัณฑ์อื่น ๆ จากผึ้ง โดยหนูที่ได้รับนมผึ้งจะมีระดับ ATP และจำนวนไมโทคอนเดรียในต่อมน้ำตาสูงขึ้นซึ่งช่วยฟื้นฟูการทำงานของต่อมน้ำตา และงานวิจัยของ Inoue et al. (2017) โดยศึกษาประสิทธิภาพของนมผึ้งต่ออาการตาแห้งในมนุษย์ โดยใช้ผู้เข้าร่วม 43 ราย อายุ 20-60 ปี ที่มีอาการตาแห้ง และแบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ นมผึ้ง 1200 mg/วัน และกลุ่มยาหลอก เป็นเวลา 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นวัดปริมาณน้ำตา, ความเสียหายของกระจกตา, และแบบสอบถามอาการตาแห้ง ซึ่งผลการทดลองระบุว่ากลุ่มที่ได้รับนมผึ้งมีปริมาณน้ำตาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังพบว่า มีงานวิจัยที่ทำเกี่ยวกับหลอดเลือดและระบบต่อมไร้ท่อ โดยเป็นงานวิจัยของ Morita et al. (2012) ได้การศึกษาค้นคว้าผลของการบริโภคนมผึ้งระยะเวลา 6 เดือนในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี เพื่อประเมินผลต่อการสร้างเม็ดเลือด, การควบคุมน้ำตาลในเลือด, และสุขภาพจิต ซึ่งจะทำการทดลองในอาสาสมัคร 61 คน อายุตั้งแต่ 42-83 ปี แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ได้รับนมผึ้ง 31 คน โดยได้รับนมผึ้งขนาด 3,000 มก./วัน ซึ่งใช้นมผึ้งในรูปแบบของเหลว และกลุ่มยาหลอก 30 คน ได้รับของเหลวที่มีลักษณะเหมือนกันแต่ไม่มีนมผึ้งผสมอยู่ สำหรับตัวชี้วัด ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC), ฮีมาโตคริต (Ht), ระดับน้ำตาลในเลือดและอินซูลิน และคะแนนสุขภาพจิต (SF-36) จากผลการศึกษาพบว่า กลุ่มนมผึ้งมีการเพิ่มของ RBC และ Ht อย่างมีนัยสำคัญ และสามารถควบคุมน้ำตาลในเลือดดีขึ้น โดยระดับ Fasting plasma glucose (FBS) หรือค่าระดับน้ำตาลในเลือดลดลงและการตอบสนองต่ออินซูลินดีขึ้น อีกทั้งสุขภาพจิต (Mental Health) ดีขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มยาหลอก ต่อมาเป็นงานวิจัยของ Ohba et al. (2021) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าผลของนมผึ้งต่อการทำงานของหลอดเลือดและการลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดในผู้ป่วยพอกไต ซึ่งทำการทดลองในผู้ป่วยพอกไต 270 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ได้รับนมผึ้งปริมาณ 3,600 mg/วัน เป็นเวลา 24 เดือน และกลุ่มยาหลอกโดยได้รับแคปซูลแบ่งในปริมาณเท่ากัน สำหรับตัวชี้วัดที่ใช้วัดผล คือ Flow-Mediated Dilation (FMD) เพื่อวัดการขยายตัวของหลอดเลือดและตัวชี้วัดอื่น ๆ เช่น Endothelial Stem Cells (ESCs), การอักเสบ (Inflammation) และความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) จากผลการศึกษาเบื้องต้นระบุว่า นมผึ้งน่าจะไปช่วยปรับปรุงการทำงานของหลอดเลือด โดยเพิ่มค่าการขยายตัวของ Flow-Mediated Dilation จะไปลดค่าการอักเสบ และความเครียดออกซิเดชัน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดและหัวใจ

2.7.2 การศึกษานมผึ้งในรูปแบบทาหรือใช้ภายนอก

ได้มีงานวิจัยที่นำนมผึ้งมาทำในรูปแบบทาหรือใช้ภายนอกสำหรับรักษาแผลที่ผิวหนัง โดยมีงานวิจัยของ Rizki et al. (2023) เพื่อศึกษาความคงตัวของเจลนมผึ้งและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ที่อาจมีผลต่อการรักษาแผลเป็นจากการผ่าตัด ในงานวิจัยดังกล่าวนี้ได้นำนมผึ้งมาจากฟาร์มในประเทศอินโดนีเซียผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผงแห้ง (lyophilized) และทดสอบคุณสมบัติทางเคมี เช่น

ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) และฟีนอล (Phenol) อีกทั้งยังประเมินความคงตัวของเจลนมผึ้ง ในสภาวะแตกต่างกันเป็นเวลา 28 วัน โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของ pH, สี, กลิ่น, เนื้อสัมผัส และการกระจายตัว จากผลลัพธ์ที่ได้พบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ระหว่าง 0.21 ± 0.03 mg/gram และ ปริมาณฟีนอลอยู่ที่ 1.41% ถึง 1.66% ซึ่งเจลนมผึ้งมีความคงตัวภายใต้เงื่อนไขที่แตกต่างกัน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญด้าน pH หรือเนื้อสัมผัส ซึ่งสรุปได้ว่าเจลนมผึ้งมีความเสถียรสูงและมี ศักยภาพในการใช้รักษาแผลเป็นและแผลที่เกิดจากการผ่าตัด ต่อมาเป็นงานวิจัยของ El-Gayar et al. (2022) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเจลที่มีส่วนผสมของนมผึ้งแห้ง (lyophilized royal jelly; LRJ) และสารสกัดกระเทียม (Garlic Extract; GE) ในการรักษาแผลติดเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในหนูทดลอง ในงานวิจัยดังกล่าวได้พัฒนาเจล (emulgel) 4 สูตรที่มี LRJ และ GE ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน แล้วนำไปทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความหนืด, ค่า pH, การกระจายตัว และความเสถียร โดยใช้หนูทดลองที่ถูกทำให้เป็นแผลติดเชื้อ MRSA เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของเจล สำหรับผลลัพธ์ที่ได้ สูตรที่ดีที่สุด คือสูตร MF3 ที่มี 4% LRJ และ 50% GE ซึ่งช่วยเร่งกระบวนการสมานแผลได้สูงสุด โดยสูตร MF3 แสดงให้เห็นว่าช่วยลดการติดเชื้อ MRSA ได้ดีและมีผลเชิงบวกต่อกระบวนการซ่อมแซมผิวหนังทั้งจากการตรวจร่างกายและการตรวจทางพยาธิวิทยา และมีงานวิจัยของ Lin et al. (2020) โดยได้ศึกษาผลของนมผึ้งที่มาจากแหล่ง ดอกไม้ต่างกันต่อกระบวนการสมานแผลทั้งในหนูทดลองและเซลล์มนุษย์ โดยงานวิจัยนี้ได้นำนมผึ้งมา จากสองแหล่ง คือ ดอกเกาลัด (*Castanea mollissima*) และดอกเรพชืด (*Brassica napus*) โดยจำลองแผลผ่าตัดในหนูทดลอง เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของนมผึ้งในการเร่งการปิดแผล และ ศึกษากลไกของนมผึ้งในการสมานแผลโดยใช้เซลล์เคราติโนไซต์ของมนุษย์ (HaCaT) และแมคโครฟาจ ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้พบว่า นมผึ้งจากดอกเกาลัดช่วยเร่งการปิดแผลมากกว่า ดอกเรพชืด โดยเฉพาะในช่วงวันที่ 2-4 และนมผึ้งจากดอกเกาลัดยังช่วยเพิ่มการแบ่งตัวและการ เคลื่อนที่ของเซลล์เคราติโนไซต์ และลดการอักเสบโดยยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (NO) และ $\text{TNF-}\alpha$ ต่อมาได้มีการศึกษาวิจัยของ Yamauchi et al. (2014) โดยศึกษาผลของการใช้นมผึ้งแบบทา เฉพาะที่เพื่อลดความรุนแรงของเยื่อช่องปากอักเสบ (mucositis) ที่เกิดจากเคมีและรังสีบำบัดใน ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ ในการศึกษาครั้งนี้ทำในผู้ป่วย 13 ราย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม ทดลอง 7 รายที่ได้ทานนมผึ้ง วันละ 3 ครั้ง และกลุ่มควบคุม 6 ราย ที่ไม่ได้ทานนมผึ้ง จากนั้นประเมิน ระดับของ mucositis สองครั้งต่อสัปดาห์ ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้คือ กลุ่มที่ทานนมผึ้งมีการเกิด mucositis ใน ระดับที่รุนแรงน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีงานวิจัยของ Siavash et al. (2013) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้นมผึ้งที่ความเข้มข้น 5% โดยใช้ทาเฉพาะที่ในการรักษาแผล เบาหวานที่เท้า (diabetic foot ulcers, DFUs) ซึ่งในการศึกษาดังกล่าวได้ทำการทดลองในผู้ป่วย เบาหวาน 25 รายที่มีแผลเบาหวาน รวม 64 แผล ถูกสุ่มให้ได้ทานนมผึ้งเข้มข้น 5% เปรียบเทียบกับ

ทายาหลอก แล้วติดตามอาการเป็นเวลา 3 เดือน หรือจนกว่าแผลจะหาย ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ระบุว่าไม่มี ความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มนมผึ้งและกลุ่มยาหลอกในอัตราการลดขนาดของแผล, ระยะเวลาที่แผลหายสนิท และอัตราการหายของแผล อีกทั้งยังมีงานวิจัยของ Rashidi et al. (2016) ที่ได้ศึกษาผลของ “Nika cream” ซึ่งเป็นครีมที่มีส่วนผสมของน้ำผึ้ง, นมผึ้ง, โพรโพลิส และน้ำมัน มะกอก ต่อกระบวนการสมานแผลในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำโดย Streptozotocin (STZ) ในงานวิจัยนี้ได้นำหนูเพศผู้จำนวน 42 ตัว แล้วแบ่งเป็นกลุ่มปกติและกลุ่มเบาหวาน โดยหนูกลุ่ม เบาหวานถูกสร้างให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด STZ เข้าไป และแผลที่หลังของหนูขนาด 2x2 ซม. ถูกสร้างขึ้นและได้รับการรักษาด้วย Nika cream, ครีม phenytoin 1% หรือไม่มีการรักษา ผลลัพธ์ จากการหายของแผลถูกติดตามจนถึงวันที่ 2 ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ระบุว่ากลุ่มที่ได้รับ Nika cream มีการ หายของแผลเร็วกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้ phenytoin 1% ต่อมาเป็นงานวิจัยของ Shirzad et al. (2014) โดยศึกษาผลของการใช้นมผึ้งต่อกระบวนการสมานแผลปลอดเชื้อในหนูทดลอง แล้วเปรียบเทียบกับยารักษาแผล Nitrofurazone ซึ่งในการศึกษาดังกล่าวใช้หนูทดลองจำนวน 60 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม และทำให้เกิดแผลปลอดเชื้อขนาด 10 มม. บริเวณกลางหลัง ซึ่งกลุ่มควบคุม 2 กลุ่มจะได้รับการรักษาด้วยน้ำเกลือและยาทา Nitrofurazone ส่วนกลุ่มทดลองอีก 4 กลุ่มจะได้ทานม ผึ้งขนาด 200 mg/kg หรือ 300 mg/kg ทุกวันหรือวันเว้นวัน จากนั้นติดตามอัตราการสมานแผลโดย วัดความยาวของแผลทุกสองวัน ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ระบุว่า กลุ่มที่ได้ทานมผึ้งที่แผลทุกวันมีอัตราการสมาน แผลเร็วกว่า การทายา Nitrofurazone อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างความเข้มข้น ของนมผึ้งที่ 200 mg/kg และ 300 mg/kg และการทานมผึ้งวันเว้นวันมีประสิทธิภาพน้อยกว่าการทา นมผึ้งทุกวัน มีงานวิจัยของ Mahdian et al. (2020) ได้มีการศึกษาผลของการใช้นมผึ้งแบบทา เฉพาะที่ต่อกระบวนการสมานแผลไฟไหม้ระดับสองในหนูทดลอง ซึ่งการทดลองดังกล่าวจะใช้หนู ทดลองจำนวน 40 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มควบคุมได้รับครีมที่เป็นยาปฏิชีวนะคือ Silver Sulfadiazine และอีกกลุ่มใช้ Eucerin ส่วนกลุ่มทดลองจะให้ทานมผึ้งที่ความเข้มข้น 1% และ 3% จากนั้นติดตามอาการในวันที่ 1, 7, 14 และ 28 โดยใช้การตรวจทางกายภาพและจุลพยาธิวิทยา ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้ระบุว่า นมผึ้ง 3% ช่วยเพิ่มการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 และเร่งการสร้างเซลล์ผิวหนัง ใหม่ของหนูทดลอง และเพิ่มกระบวนการสร้างเส้นเลือดใหม่และการเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ อีกทั้งยังลดขนาดของบาดแผลได้มากกว่ากลุ่มควบคุม จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับ รูปแบบการใช้งานของนมผึ้งไม่ว่าจะเป็นรูปแบบรับประทานหรือทาภายนอกก็ตาม พบว่า นมผึ้ง สามารถทำเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบรับประทานไม่ว่าจะเป็นเม็ด แคปซูล หรือของเหลวได้ แต่ความ เข้มข้นที่ใช้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยที่อาจเกิดขึ้นด้วย โดยจากงานวิจัยต่าง ๆ ทำให้ได้ข้อสรุปว่า ไม่ควรรับประทานนมผึ้งเกิน 83.2 mg/kg/วัน ยกตัวอย่างเช่น มีอาสาสมัครน้ำหนัก 50 kg หาก ต้องการรับประทานนมผึ้งก็ไม่ควรเกิน 4,160 mg/วัน เป็นต้น โดยในอนาคตอาจมีการนำนมผึ้งไปใช้

ในการทดลองเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังในรูปแบบรับประทาน และในอนาคต หากผลการทดลองสำเร็จก็จะสามารถนำนมผึ้งมาแทนการใช้ยาปฏิชีวนะอย่าง Clindamycin หรือยาปฏิชีวนะอื่น ๆ ได้ ส่วนการใช้นมผึ้งในรูปแบบทาภายนอกก็สามารถนำมาใช้ได้เช่นเดียวกันโดยจากการทบทวนวรรณกรรมเบื้องต้นส่วนใหญ่จะใช้ในการรักษาแผลติดเชื้อ โดยมีงานวิจัยในหนูทดลองที่เป็นแผลซึ่งใช้นมผึ้งที่ความเข้มข้น 200 และ 300 mg/kg/วัน พบว่า สามารถสมานแผลได้ดี ส่วนในอีกงานวิจัยพบว่า หากใช้นมผึ้งที่ความเข้มข้น 3 % พบว่าสามารถรักษาแผลของหนูทดลองได้ แต่พอใช้นมผึ้งที่ความเข้มข้น 5% นั้นยังไม่สามารถรักษาแผลในผู้ป่วยเบาหวานได้ ดังนั้นควรมีการทำวิจัยด้านฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้นมผึ้งแบบทาในมนุษย์ต่อไป (Mahdian et al., 2020; Miyata et al., 2020; Rashidi et al., 2016; Siavash et al., 2013)



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory Research) ที่มุ่งเน้นในการศึกษานมผึ้งกับฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* โดยเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 ประชากร

แบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ได้แก่

3.1.1.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

3.1.1.2 *Streptococcus pyogenes* DMST 49167

3.1.1.3 *Cutibacterium acnes* DMST 14916

3.1.2 กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่นำมาทดสอบมี 2 ชนิด ได้แก่

3.1.2.1 ตัวอย่างนมผึ้ง โดยเก็บจากผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งเลี้ยงในพื้นที่ที่ผึ้งมีการเก็บเกสรจากดอกไม้ป่าในแหล่งธรรมชาติ และเก็บตัวอย่างนมผึ้งในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม พ.ศ. 2567 ซึ่งเป็นช่วงเวลาแห่งการบานสะพรั่งของดอกไม้ป่าชนิด หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -2°C จนกว่าจะทำการส่งวิเคราะห์ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568

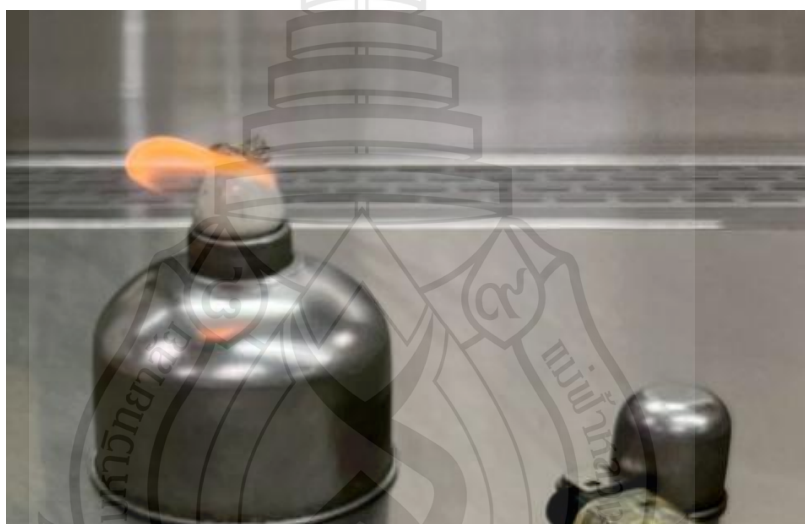
3.1.2.2 ยาเลโวฟลอกซาซิน (Levofloxacin) เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Fluoroquinolone มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยใช้เป็น positive control ในการทดลองครั้งนี้ ในรูปแบบผงสำหรับการทดสอบ MIC และ MBC ด้วยวิธี Broth microdilution และในรูปแบบแผ่นกระดาษ (disc) ขนาด $5\text{ }\mu\text{g/disc}$ สำหรับวิธี Agar well diffusion โดยทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* เพื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อของนมผึ้ง

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

การศึกษากุณัตินเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังในครั้งนี้ดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียว จังหวัดสมุทรปราการ ซึ่งเป็นหน่วยงานเอกชนที่ได้รับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ โดยเครื่องมือที่ใช้สำหรับศึกษากุณัตินเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนังของนมผง มีดังนี้

3.2.1 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

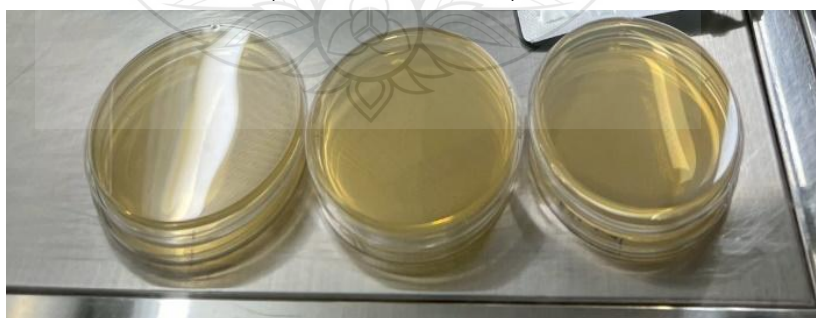
ใช้สำหรับเผาเชื้ออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ, ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อทำให้ปลอดเชื้อ, ใช้สำหรับต้มน้ำ สารเคมี สารผสม หรือใช้ในงานด้านอื่น ๆ ที่ต้องใช้ความร้อน



ภาพที่ 3.1 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.2.2 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

ใช้สำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการ



ภาพที่ 3.2 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.2.3 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile Cotton Swab)

ใช้สำหรับเกลี่ยเชื้อจุลินทรีย์หรือสารทดสอบในงานเพาะเชื้อ



ภาพที่ 3.3 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile Cotton Swab)

3.2.4 ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) และปิเปตต์ ทิป (Pipette Tip)

อุปกรณ์ทางเคมีที่ใช้ในการตวง-วัดปริมาณสารที่เป็นของเหลว มีสเกล (Scale) การวัดที่มีความละเอียดและความแม่นยำสูง



ภาพที่ 3.4 ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) และปิเปตต์ ทิป (Pipette tip)

3.2.5 เครื่องชั่งสารเคมี (Analytical Balance)

ใช้สำหรับตวงและดูค่าสารละลาย ด้วยปริมาตรที่แม่นยำ



ภาพที่ 3.5 เครื่องชั่งสารเคมี (Analytical Balance)

3.2.6 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)

เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับบ่มเพาะเชื้อ เลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 3.6 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)

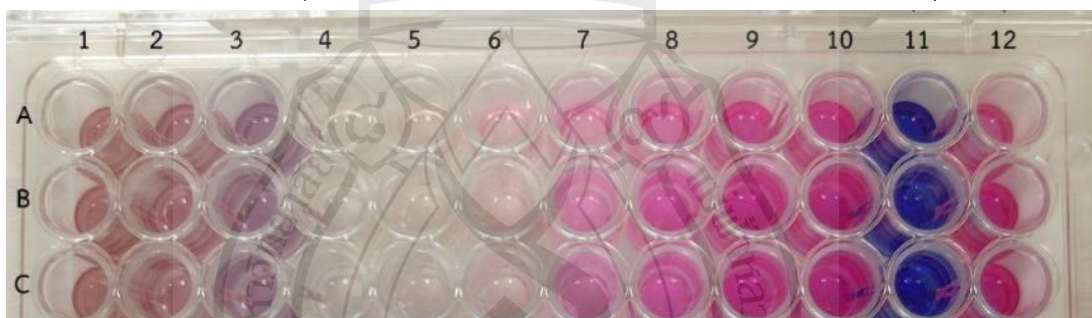
3.2.7 โถบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Jar)



ภาพที่ 3.7 โถบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Jar)

3.2.8 96 Well Plate Flat-Bottle Sterile

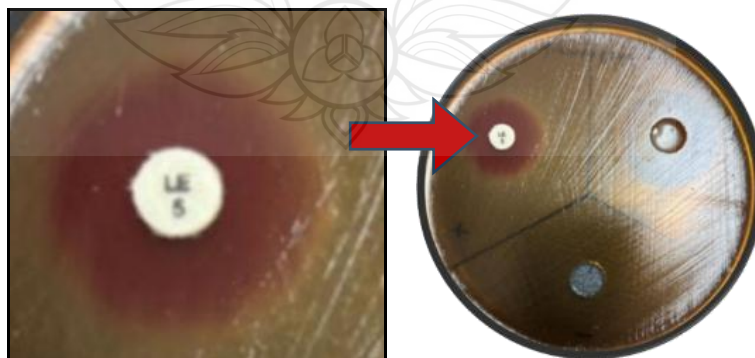
ไมโครเพลทจะมีหลุมใส่ตัวอย่างจำนวน 96 ช่อง ใช้กับงานด้านวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา



ภาพที่ 3.8 96 Well Plate, Flat-Bottle Sterile

3.2.9 Discs ของยา Levofloxacin

Disc ของยา Levofloxacin ที่จะนำมาทดสอบในวิธี Agar disc diffusion



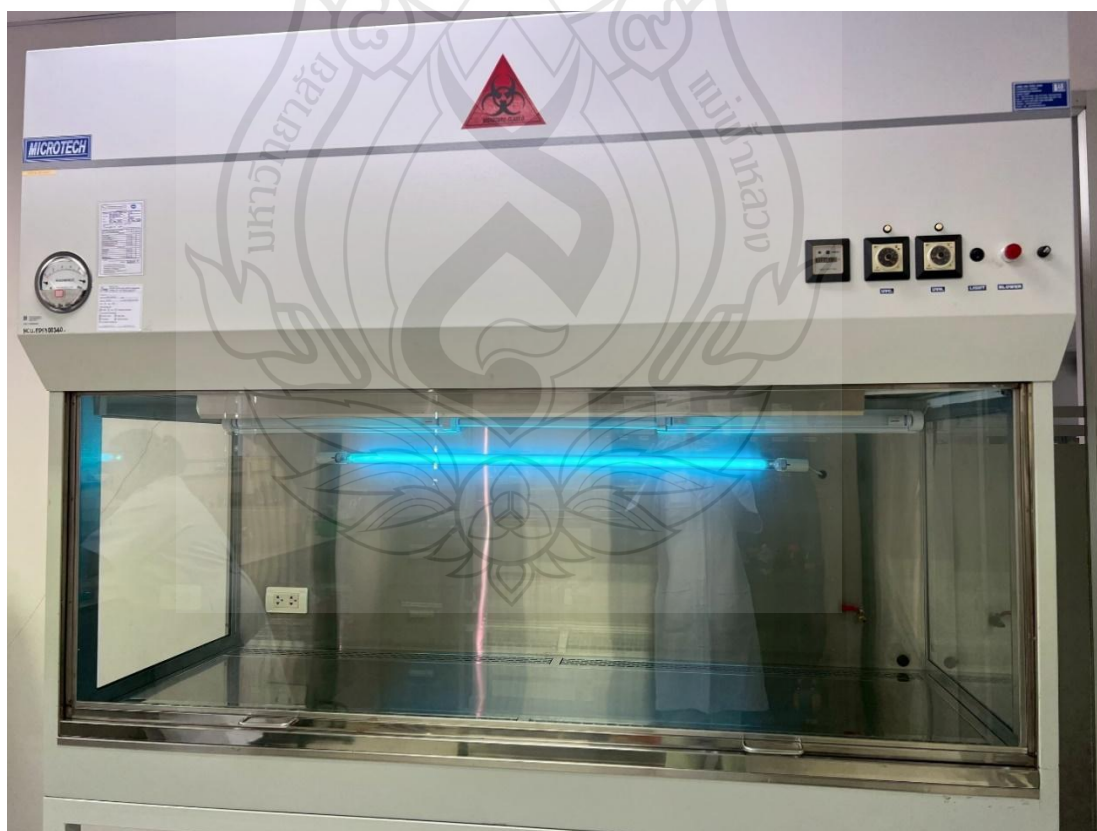
ภาพที่ 3.9 Paper Disc ของยา Levofloxacin

3.2.10 Biosafety Cabinet Class I, II หรือ BSC Class I, II

เป็นตู้ชีวนิรภัยที่สามารถป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ไปสู่ ผู้ปฏิบัติงาน, สิ่งแวดล้อมและผลิตภัณฑ์ได้ โดย CDC ได้ระบุว่า *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* จัดอยู่ในเชื้อแบคทีเรีย Biosafety Level 2 ส่วน *Cutibacterium acnes* จัดอยู่ในเชื้อแบคทีเรีย Biosafety Level 1 ซึ่งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้ สามารถใช้ตู้ชีวนิรภัย (Biological safety cabinet, BSC) Class I, II ก็ได้ แต่หากใช้ Class II จะปกป้องทั้งผู้ปฏิบัติงาน สิ่งแวดล้อม และผลิตภัณฑ์ (ศูนย์บริหารจัดการความปลอดภัย อาชีวอนามัย และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2565)

3.2.10.1 Biological safety cabinet, BSC Class II

ทิศทางการไหลเป็นแนวตั้ง วิ่งผ่านจากบนลงล่าง (Vertical Unidirectional Airflow) อากาศผ่านพื้นที่ทำงาน แยกเป็นสองส่วนไปที่รูตระแกรงด้านหน้าและหลัง (Front and Rear Air Grills) ไม่มีส่วนใดเล็ดรอดออกมาทำอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน เหมาะสำหรับงาน Biosafety Level 1, 2 และ 3 (ศูนย์บริหารจัดการความปลอดภัย อาชีวอนามัย และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2022)



ภาพที่ 3.10 Biological Safety Cabinet, BSC Class II

3.2.11 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork Borer)

ใช้ในการเจาะรูในงานเพาะเลี้ยงเชื้อ (agar plate)



ภาพที่ 3.11 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork Borer)

3.2.12 เครื่อง UV Visible Spectrophotometer

เครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นอัลตราไวโอเล็ต และช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ ใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ผลของ MIC



ภาพที่ 3.12 เครื่อง UV Visible Spectrophotometer

3.2.14 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางผิวหนัง

3.2.14.1 Mueller-Hinton Agar (อาหารแข็ง) และ Broth (อาหารเหลว) จะใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อให้กับ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes*

3.2.14.2 Brain Heart Infusion Agar (อาหารแข็ง) และ Broth (อาหารเหลว) จะใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อให้กับ *Cutibacterium acnes*

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.3.1.1 ตัวอย่างนมผง ที่เก็บจากฟาร์มผงได้ถูกบรรจุในภาชนะที่สะอาด ปราศจากการปนเปื้อน ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม พ.ศ. 2567 เก็บรักษาในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ -2°C จนกว่าจะส่งวิเคราะห์ โดยนำส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียว จังหวัดสมุทรปราการโดยควบคุมอุณหภูมิตลอดระยะเวลาที่ขนส่ง จากนั้นนำมาละลายด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 4°C แล้วปรับความเข้มข้นของนมผงโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย (Uthaibutra et al., 2022) โดยเจือจางที่ความเข้มข้น 10 ความเข้มข้นดังนี้ 300, 150, 75, 37.5, 18.75, 9.375, 4.6875, 2.3438, 1.1719 และ 0.5859 mg/mL

3.3.1.2 เลโวฟลอกซาซิน (Levofloxacin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม fluoroquinolone ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยใช้เป็น positive control ในการทดลองครั้งนี้ ในรูปแบบผงสำหรับการทดสอบ MIC และ MBC ด้วยวิธี broth microdilution และในรูปแบบแผ่นกระดาษ (disc) ขนาด 5 $\mu\text{g}/\text{disc}$ สำหรับวิธี Agar well diffusion โดยทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* เพื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อของนมผง

3.3.1.3 เตรียม Bacteria stock solution ของแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* โดยการทดสอบนี้ทำใน Biological safety cabinet, BSC Class II (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012)

1. นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในหลอดทดลองมาเตรียมไว้
2. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion Broth
3. ใช้เข็มสำหรับเขี่ยเชื้อไปแตะเชื้อที่ยอดโคโลนีของเชื้อ
4. เอียงหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Brain Heart Infusion Broth แล้วใช้ เข็มสำหรับเขี่ยเชื้อที่แตะเชื้อแล้ว มาป้ายบริเวณด้านข้างของหลอด
5. นำหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวและป้ายเชื้อไว้แล้ว ไปใส่ในโถบ่มเพาะเชื้อที่สภาวะไร้ออกซิเจน จากนั้นนำไปใส่ในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. จากนั้นนำไปปรับค่าความขุ่นของเชื้อโดยใช้ 0.85% NaCl ให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ซึ่งเท่ากับมีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL จะได้หัวเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes*

3.3.1.4 เตรียม Bacteria stock solution ของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* โดยการทดสอบนี้ทำใน Biological safety cabinet, BSC Class II (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012)

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง คือ Mueller Hinton Agar
2. ใช้เข็มสำหรับเขี่ยเชื้อไปแตะเชื้อที่ยอดโคโลนีของเชื้อ
3. เกลี่ยเชื้อ หรือ Streak เชื้อให้ทั่วจานเพาะเชื้อ
4. นำจานเพาะเชื้อที่ Steak เชื้อไว้แล้ว ไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ หรือ Incubator ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. นำจานเพาะเชื้อที่บ่มแล้ว 24 ชั่วโมงออกมา แล้วใช้ Needle แตะเชื้อที่โคโลนีของเชื้อประมาณ 5 โคโลนี
6. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว คือ Mueller Hinton Broth
7. เอียงหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton Broth แล้วใช้ เข็มสำหรับเขี่ยเชื้อที่แตะเชื้อแล้ว มาป้ายบริเวณด้านข้างของหลอด
8. นำหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ได้เชื้อที่ป้ายเชื้อเอาไว้แล้ว ไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ หรือ Incubator ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
9. จากนั้นนำไปปรับค่าความขุ่นของเชื้อโดยใช้ 0.85% NaCl ให้ใกล้เคียงกับค่า 0.5 McFarland Standard ซึ่งเท่ากับมีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL จะได้หัวเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการ

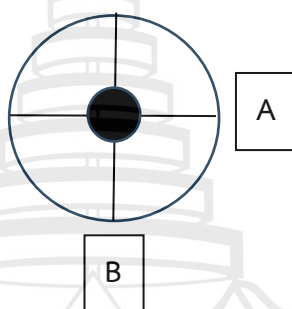
3.3.2 การทดสอบ Agar well diffusion อ้างอิงจาก Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) โดยการทดสอบนี้ทำใน Biological safety cabinet, BSC Class II

- 3.3.2.1 นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมาเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer
- 3.3.2.2 ใช้ปิเปตต์แก้วดูดเชื้อแบคทีเรียมา 0.1 mL แล้วหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง บนจานเพาะเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* ใช้ Mueller-Hinton Agar ส่วน *C. acnes* ใช้ Brain Heart Infusion Agar
- 3.3.2.3 ใช้ไม้พันสำลีเกลี่ยเชื้อให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ Streak plate
- 3.3.2.4 เตรียมสารตัวอย่าง

1. Disc ยา Levofloxacin 5 µg/disc
2. สารละลายนมผง 300 mg/mL โดยนำ micropipette ดูดสารละลายนมผงมา 20 µL แล้วปล่อยลงในหลุมที่เจาะไว้ด้วย cork borer และอีกหลุมใส่น้ำกลั่นลงไป
- 3.3.2.5 นำ Disc สารตัวอย่าง ได้แก่ ยา Levofloxacin 5 µg มา โดยใช้คีมหนีบนำ disc วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ spread plate ไว้แล้ว โดยวางห่างจากขอบ 15 mm และห่างจากสารตัวอย่างอื่น 10-15 mm

3.3.2.6 นำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* บ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วน *C. acnes* บ่มในตู้เดียวกันแต่อยู่ในโถเพาะเชื้อที่สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.2.7 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเขตยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) รอบหลุม วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ทั้ง 2 ด้าน โดยให้ตั้งฉากกัน โดยให้ X = เส้นผ่านศูนย์กลาง disc หรือหลุมที่เจาะใส่สารละลาย และ XX = เส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone ด้าน A = (XX-X)/2 ด้าน B = (XX-X)/2 โดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm) จากนั้นนำค่าที่ได้ทั้ง 2 ค่า มาบวกกันแล้วหารสอง จะได้ค่า Inhibition Zone Diameter



ภาพที่ 3.13 การวัดและหาค่าเขตยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone Diameter)

3.3.3 การทดสอบหาค่าของ Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2020)

3.3.3.1 ปรับความขุ่นของเชื้อ โดยนำเชื้อ stock เดิมมา 0.1 mL แล้วใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวอีก 9.9 mL จะได้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^6 CFU/mL แล้วนำมาใส่ใน 96-well microplate ปริมาณ 50 μ L/หลุม

3.3.3.2 เตรียมการเจือจางสารตัวอย่างแบบสองเท่า (serial dilution) ใส่ใน 96-well microplate ปริมาณ 50 μ L/หลุม

1. สารละลายนมผงที่ความเข้มข้น 10 ความเข้มข้น 300, 150, 75, 37.5, 18.75, 9.375, 4.6875, 2.3438, 1.1719 และ 0.5859 mg/mL

2. ยา Levofloxacin ที่ความเข้มข้น 5 μ g/mL

3.3.3.3 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปปริมาณ 50 μ L/หลุม โดย Mueller Hinton Broth ใส่ในเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* ส่วน Brain Heart Infusion Broth ใส่ใน *C. acnes*

3.3.3.4 บ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม ดังนี้

1. *S. aureus* และ *S. pyogenes* บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. *C. acnes* บ่มในสภาวะไร้ออกซิเจนที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.3.5 การอ่านค่า MIC ให้สังเกตหลุมที่ไม่มีความขุ่น หรือใส จะแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ และดูความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

3.3.3.6 การทดสอบหาค่า MBC

1. ทำโดยเก็บตัวอย่างจากหลุมที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากการทดสอบ MIC ก่อนหน้า และดูดสารละลายจากหลุมมา 10 μ L

2. หยอดสารละลายที่ได้จากแต่ละหลุมลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้ว spread plate หรือเกลี่ยสารละลายให้ทั่ว

3. บ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม ดังนี้

1) *S. aureus* และ *S. pyogenes* บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) *C. acnes* บ่มในสภาวะไร้ออกซิเจนที่ 37°C เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

4. การอ่านค่า MBC ให้สังเกตจากจานเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจานที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายในหลุมนั้นสามารถฆ่าเชื้อได้

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าที่แสดงผลจะอยู่ในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion หากข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ (Non-normal distribution) ได้ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มนมผึ้งและยา Levofloxacin ในเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* ส่วนในเชื้อ *Streptococcus pyogenes* จะวิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) ต่อมาสำหรับการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และวิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มนมผึ้งและยา Levofloxacin ที่ทดสอบใน *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดดำเนินการด้วยโปรแกรมทางสถิติ Program SPSS (มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง) เลขสั่งซื้อ version 21.0, Renewal Quote Number เลขที่ 26500879, Passport Advantage Site Number เลขที่ 3547818, เลขอ้างอิงการอัปเดตเป็น version 23.0 และ Passport Advantage Agreement Number เลขที่ 0000203798

บทที่ 4

ผลของการศึกษา

4.1 ผลการทดสอบ Agar Well Diffusion

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของน้ำนมผึ้ง (Royal Jelly) ต่อเชื้อก่อโรคทางผิวหนัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* โดยประเมินผ่านการทดสอบขนาด Zone of inhibition จากวิธี Agar Well Diffusion เพื่อใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบเบื้องต้น ต่อมาจึงใช้วิธี Broth Microdilution เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) และแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD)

ตารางที่ 4.1 ผลการวัดรัศมีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Inhibition zone) โดยวัดเป็นขนาดรัศมีเฉลี่ยของการยับยั้งเชื้อ (millimeter; mm) โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

กลุ่มตัวอย่าง	Average Diameter of Inhibition (millimeter; mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>C. acnes</i>
	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
นมผึ้ง 300 mg/mL	12.83 $\pm$ 0.76	0.00 $\pm$ 0.00	20.67 $\pm$ 0.58
Levofloxacin 5 μ g/disc	28.33 $\pm$ 0.58	20.00 $\pm$ 0.00	34.33 $\pm$ 1.15

หมายเหตุ *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* = *Streptococcus pyogenes*, *C. acnes* = *Cutibacterium acnes*, μ g = microgram, mg = milligram, mL = milliliter

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion ในครั้งนี้ได้ประเมินผลโดยวัด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Inhibition zone) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารทดสอบแต่ละชนิด ได้แก่ นมผึ้ง และยา Levofloxacin โดยใช้หน่วยเป็น mm (millimeter; mm) ในการทดลอง ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus*

pyogenes (*S. pyogenes*) และ *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) โดยเปรียบเทียบผลของสารทดสอบ 2 กลุ่ม ได้แก่ นมผึ้งเข้มข้น 300 mg/mL และยามาตรฐาน Levofloxacin ความเข้มข้น 5 µg/disc การทดสอบดำเนินการจำนวน 3 ซ้ำ (Triplicate) เพื่อให้ได้ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) สำหรับการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มโดยใช้ Mann-Whitney U test ซึ่งเหมาะสมกับข้อมูลแบบไม่เป็นการแจกแจงปกติ (non-parametric)

จากผลการทดลองพบว่า นมผึ้งเข้มข้น 300 mg/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ในระดับปานกลาง โดยให้ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอยู่ที่ 12.83 ± 0.76 mm อย่างไรก็ตาม ไม่มีผลในการยับยั้ง *S. pyogenes* (0.00 ± 0.00 mm) แสดงให้เห็นว่านมผึ้งอาจไม่มีประสิทธิภาพต่อเชื้อชนิดนี้ สำหรับเชื้อ *C. acnes* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคผิวหนังที่สำคัญ พบว่านมผึ้งสามารถยับยั้งได้ในระดับดี โดยมีค่าเฉลี่ย Inhibition zone เท่ากับ 20.67 ± 0.58 mm ขณะที่ยาควบคุมเชิงบวก Levofloxacin 5 µg/disc ให้ค่า Inhibition zone ที่สูงกว่าทุกกรณี โดยยับยั้ง *S. aureus* ได้ที่ 28.33 ± 0.58 mm, ยับยั้ง *S. pyogenes* ได้ที่ 20.00 ± 0.00 mm และยับยั้ง *C. acnes* ได้มากที่สุด คือ 34.33 ± 1.15 mm ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า Levofloxacin มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่นมผึ้งแสดงศักยภาพต่อเชื้อบางชนิดเท่านั้น โดยเฉพาะเชื้อ *C. acnes* ที่พบว่ามีความ Inhibition zone อยู่ในระดับค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้ออื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีปัญหาสิว อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับที่ลึกขึ้นเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์และความสัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีภายในนมผึ้ง

4.1.1 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ของนมผึ้งเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

ตัวอย่างที่นำมาเปรียบเทียบ	p-value
นมผึ้งเทียบกับยา Levofloxacin	0.029

ผลการทดสอบด้วย Mann-Whitney U test ระหว่างกลุ่มนมผึ้งและ Levofloxacin พบว่าค่า $p = 0.029$ ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่า Levofloxacin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่านมผึ้งอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าทั้งนมผึ้ง (300 mg/mL) และยา Levofloxacin (5 µg/mL) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ โดยแสดงผลเป็นการเกิด Zone of inhibition รอบหลุมใส่สารทดสอบอย่าง

ชัดเจน ต่างจากน้ำกลั่นซึ่งไม่แสดงการยับยั้งเชื้อเลยในทุกการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ Zone of inhibition พบว่า Levofloxacin มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ชัดเจนกว่า โดยให้ค่าเฉลี่ย Zone of inhibition เท่ากับ 28.33 ± 0.58 mm ขณะที่นมผึ้งให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 12.83 ± 0.76 mm แสดงถึงการมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของนมผึ้ง แม้ผลที่ได้นั้นจะด้อยกว่ายาปฏิชีวนะอย่าง Levofloxacin ก็ตาม

4.1.2 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes*

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า Levofloxacin ที่ความเข้มข้น 5 µg/disc สามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของ Zone of inhibition เฉลี่ยเท่ากับ 20.00 ± 0.00 mm จากผลการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ (ค่าแต่ละซ้ำเท่ากันคือ 20 mm) สะท้อนถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่คงที่และต่อเนื่อง ในขณะที่เมื่อทดสอบด้วย นมผึ้ง (Royal Jelly) ที่ความเข้มข้น 300 mg/mL ไม่พบการเกิดบริเวณใสรอบหลุมสารทดสอบในทุกการทดลอง โดยให้ค่าเฉลี่ยของ Zone of inhibition เท่ากับ 0.00 ± 0.00 mm จากการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ ซึ่งค่าที่ได้ในแต่ละซ้ำเป็นศูนย์ทั้งหมดเช่นกัน แสดงว่าไม่มีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียภายใต้เงื่อนไขและความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้

การที่ Levofloxacin แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ได้ดี สอดคล้องกับคุณสมบัติของยานี้ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Fluoroquinolones ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่นมผึ้งอาจไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อชนิดนี้ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ได้แก่ 300 mg/mL อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถสรุปผลการไม่ออกฤทธิ์ว่าเป็นการไม่มีฤทธิ์โดยสมบูรณ์ เพราะอาจต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมในความเข้มข้นที่สูงขึ้น หรือพิจารณาใช้สารสกัดจากนมผึ้งที่ผ่านการแยกองค์ประกอบออกฤทธิ์แล้ว

4.1.3 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes*

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ของนมผึ้งเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes*

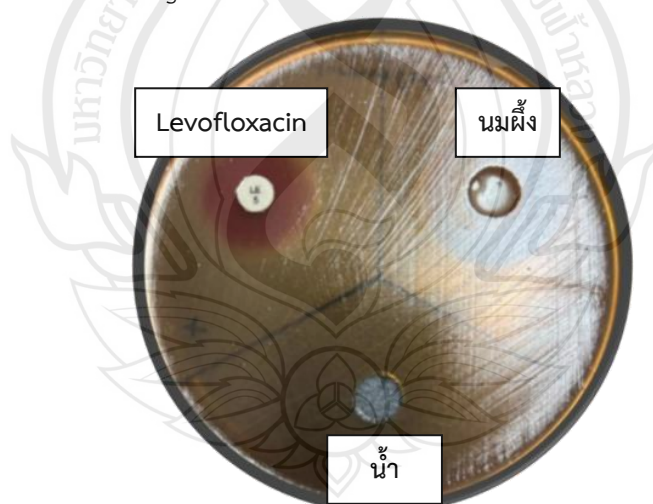
ตัวอย่างที่นำมาเปรียบเทียบ	p-value
นมผึ้งเทียบกับยา Levofloxacin	0.029

จากการศึกษาประสิทธิภาพของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* โดยใช้วิธี Agar well diffusion พบว่า นมผึ้งที่ความเข้มข้น 300 mg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ได้ โดยให้ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ (Zone of inhibition) เท่ากับ 20.67 ± 0.58 mm จากผลการทดลอง

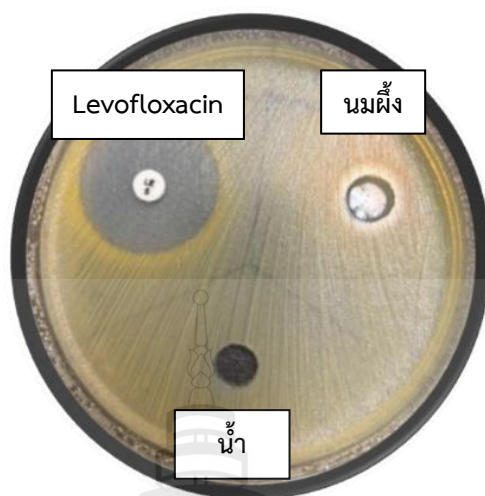
3 ซ้ำ โดยค่าที่ได้จากแต่ละซ้ำนั้นจะอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสม่ำเสมอของผลการทดลองในกลุ่มนี้ ในขณะที่ Levofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Fluoroquinolones ที่นำมาใช้ในการเปรียบเทียบในครั้งนี้ มีความเข้มข้น 5 µg/disc ให้ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อเท่ากับ 34.33 ± 1.15 mm จากการทดลองในจำนวน 3 ซ้ำเช่นเดียวกัน โดยค่า SD ที่ไม่สูงมากแสดงถึงความเสถียรของผลในกลุ่มนี้ด้วย

เพื่อประเมินความแตกต่างของฤทธิ์การยับยั้งระหว่างนมผึ้งและยา Levofloxacin ได้มีการนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ซึ่งเหมาะสำหรับการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างอิสระ 2 กลุ่มที่มีขนาดกลุ่มเล็กและเป็นการแจกแจงแบบไม่ปกติ ผลการวิเคราะห์พบว่าค่า $p = 0.029$ ซึ่งแสดงถึงความแตกต่างของผลการยับยั้งระหว่างกลุ่มนมผึ้งและ Levofloxacin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยสรุป ผลจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าทั้งกลุ่มนมผึ้งและยา Levofloxacin มีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ที่สามารถตรวจวัดได้จากการเกิด Zone of inhibition บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อวิเคราะห์เชิงสถิติ ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในส่วนนี้นั้นสามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลเพื่อที่จะเปรียบเทียบความสามารถของสารต่าง ๆ ในการยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ภายใต้งีออนไขเดียวกัน

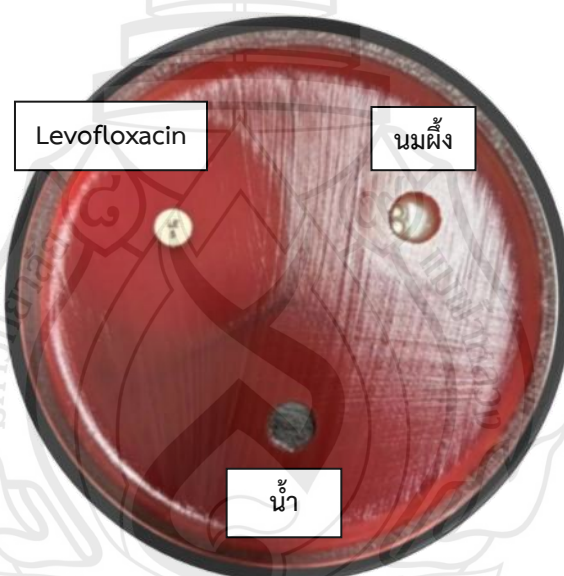
ภาพผลการทดสอบ Agar Well Diffusion Method



ภาพที่ 4.1 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*



ภาพที่ 4.2 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes*



ภาพที่ 4.3 Agar Well Diffusion Method ในเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes*

4.2 ผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของนมผึ้งในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นอีกหนึ่งสาเหตุของปัญหาทางผิวหนัง โดยเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ค่าที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของสารทั้งสองชนิด ได้แก่ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) โดยตัวอย่างนมผึ้งถูกเตรียมในช่วง

ความเข้มข้น 0.58 – 300 mg/mL และทำการทดสอบร่วมกับยา Levofloxacin ที่มีความเข้มข้น 5 µg/mL โดยทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้งในแต่ละกลุ่ม อ่านผลโดยใช้วิธี Broth Microdilution และการเพาะเลี้ยงเชื้ออาหารวุ้น และแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD)

ตารางที่ 4.4 ค่า MIC และ MBC (µg/mL) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

เชื้อแบคทีเรีย <i>Staphylococcus aureus</i>		
กลุ่มตัวอย่าง	ค่า MIC (µg/mL)	ค่า MBC (µg/mL)
	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
นมผึ้ง	75,000 $\pm$ 0.00	75,000 $\pm$ 0.00
Levofloxacin	5 $\pm$ 0.00	5 $\pm$ 0.00

หมายเหตุ MIC = Minimum Inhibitory Concentration, MBC = Minimum Bactericidal Concentration, µg = microgram, mL = milliliter

ตารางที่ 4.5 ค่า MIC และ MBC (µg/mL) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

เชื้อแบคทีเรีย <i>Cutibacterium acnes</i>		
กลุ่มตัวอย่าง	ค่า MIC (µg/mL)	ค่า MBC (µg/mL)
	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
นมผึ้ง	75,000 $\pm$ 0.00	75,000 $\pm$ 0.00
Levofloxacin	5 $\pm$ 0.00	5 $\pm$ 0.00

หมายเหตุ MIC = Minimum Inhibitory Concentration, MBC = Minimum Bactericidal Concentration, µg = microgram, mL = milliliter

4.2.1 ผลการวัดค่า MIC และ MBC ของนมผึ้งและ Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

จากการทดสอบด้วยวิธี Broth Microdilution เพื่อตรวจหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่เกี่ยวข้องกับโรคติดเชื้อทางผิวหนังหลายชนิด พบผลการทดลองที่มีค่าคงที่ในแต่ละซ้ำในกลุ่มของนมผึ้ง โดยค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของนมผึ้งเท่ากับ 75,000 µg/mL $\pm$ 0.00 และค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ก็เท่ากับ 75,000 µg/mL $\pm$ 0.00 เช่นกัน

แสดงว่าค่าที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ซ้ำมีความคงที่สำหรับกลุ่ม Levofloxacin ค่า MIC ที่ได้จากการทดสอบมีค่าเท่ากับ $5 \mu\text{g/mL} \pm 0.00$ และค่า MBC ก็เท่ากับ $5 \mu\text{g/mL} \pm 0.00$ เช่นกัน โดยค่าทั้งสองแสดงผลการทดลองที่มีความคงที่ และไม่พบความแปรปรวนในแต่ละซ้ำ ถึงแม้ว่าค่าความเข้มข้นของนมผึ้งที่ใช้ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจะอยู่ในระดับที่สูงกว่ายา Levofloxacin แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่านมผึ้งสามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าวได้อย่างชัดเจน อีกทั้งนมผึ้งมีศักยภาพในการเป็นสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ดังนั้นจึงสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาเพิ่มเติมหรือพัฒนาในด้านผลิตภัณฑ์ทางผิวหนังต่อไปได้

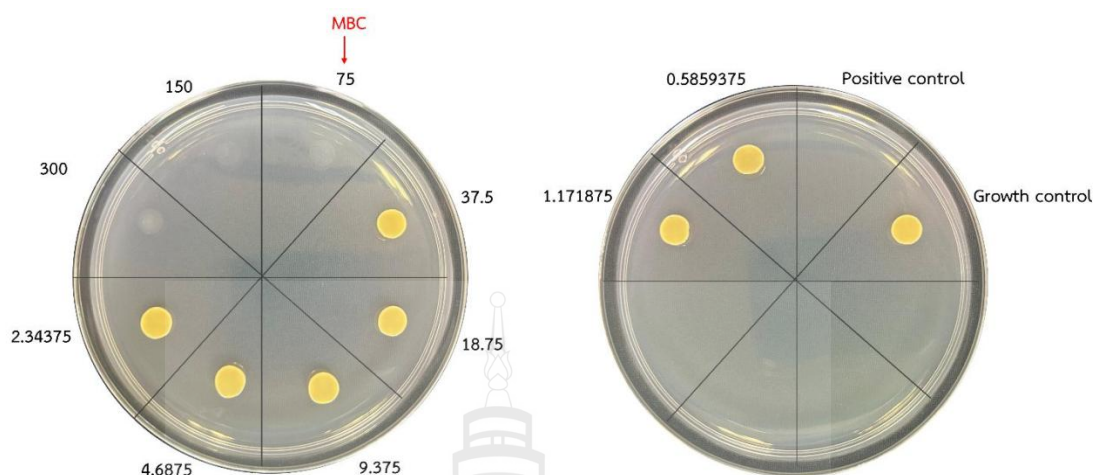
4.2.2 ผลการวัดค่า MIC และ MBC ของนมผึ้งและ Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes*

จากการทดสอบด้วยวิธี Broth Microdilution เพื่อตรวจหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของนมผึ้ง และยา Levofloxacin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* พบว่า นมผึ้งที่ความเข้มข้น 300 mg/mL มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ $75,000 \mu\text{g/mL} \pm 0.00$ ซึ่งค่าดังกล่าวมีความคงที่ตลอดการทดลองซ้ำทั้ง 3 ครั้ง แสดงถึงความสม่ำเสมอของผลการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับยา Levofloxacin ที่ความเข้มข้น $5 \mu\text{g/mL}$ พบว่ามีค่า MIC และ MBC เท่ากับ $5 \mu\text{g/mL} \pm 0.00$ เช่นกัน โดยทั้งสองกลุ่มสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Cutibacterium acnes* ได้ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน แม้นมผึ้งจะต้องใช้ความเข้มข้นสูงกว่ายาปฏิชีวนะมาตรฐาน แต่ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่านมผึ้งสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Cutibacterium acnes* ได้อย่างสม่ำเสมอ จึงนับว่าเป็นสารธรรมชาติที่มีศักยภาพในด้านฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และสามารถใช้เป็นข้อมูลตั้งต้นในการศึกษาต่อยอดเชิงวิจัยในอนาคต

ภาพผลการทดสอบ MIC and MBC assays ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

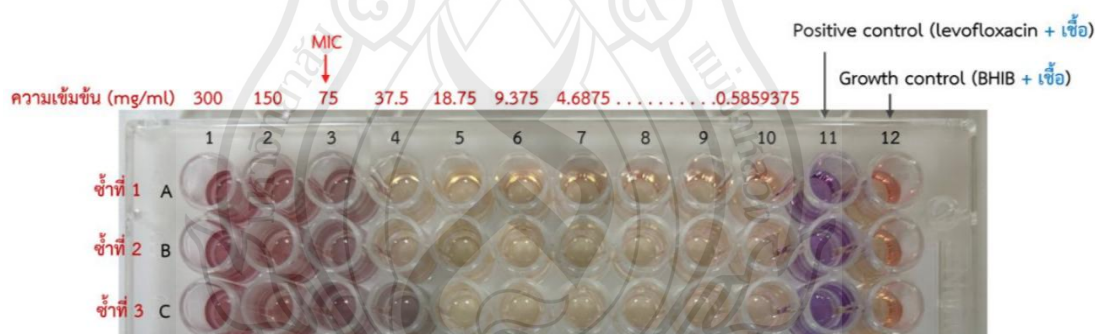


ภาพที่ 4.4 การอ่านค่า MIC พิจารณาจากการเปลี่ยนสีของ Resazurin indicator จากน้ำเงินเป็นชมพูหรือไม่มีสี จากภาพหลุมที่มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของน้ำนมผึ้งที่สีของ Resazurin indicator ไม่เปลี่ยนเป็นชมพูหรือไม่มีสี คือ 75 mg/mL ($75,000 \mu\text{g/mL}$) จึงอ่านค่า MIC ได้เท่ากับ 75 mg/mL (ภาพถ่ายหลังจากเติม Resazurin indicator แล้วบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

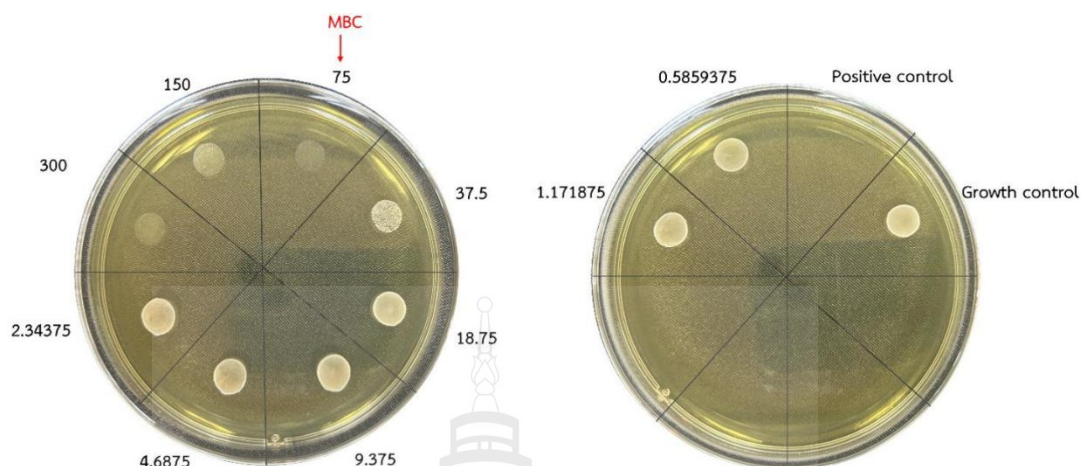


ภาพที่ 4.5 การอ่านค่า MBC พิจารณาจากการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อแข็ง MHA จากภาพความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของของน้ำนมผึ้งที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ คือ 75 mg/ml (75,000 $\mu\text{g/mL}$) จึงอ่านค่า MBC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากบ่มจานเพาะเชื้อที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

ภาพผลการทดสอบ MIC and MBC assays ต่อเชื้อ *Cutibacterium acnes* DMST 14916



ภาพที่ 4.6 การอ่านค่า MIC พิจารณาจากการเปลี่ยนสีของ Resazurin indicator จากน้ำเงินเป็นชมพูหรือไม่มีสี จากภาพหลุมที่มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของน้ำนมผึ้งที่สีของ Resazurin indicator ไม่เปลี่ยนเป็นชมพูหรือไม่มีสี คือ 75 mg/ml (75,000 $\mu\text{g/mL}$) จึงอ่านค่า MIC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากเติม Resazurin indicator แล้วบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)



ภาพที่ 4.7 การอ่านค่า MBC พิจารณาจากการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อแข็ง BHIA จากภาพพบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของน้ำนมผึ้งที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ *Cutibacterium acnes* คือ 75 mg/ml (75,000 µg/mL) จึงอ่านค่า MBC ได้เท่ากับ 75 mg/ml (ภาพถ่ายหลังจากบ่มจานเพาะเชื้อที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง)

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของนํ้านมผึ้ง (Royal Jelly) ต่อเชื้อก่อโรคทางผิวหนังที่พบบ่อย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Cutibacterium acnes* โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับยา Levofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Broad-spectrum ที่ได้รับความนิยมในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย กระบวนการทดลองประกอบด้วย การทดสอบแบบ Agar Well Diffusion เพื่อวัดขนาดของบริเวณการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Inhibition zone) และวิธี Broth Microdilution เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) อย่างมีประสิทธิภาพ ข้อมูลที่ได้ถูกวิเคราะห์ด้วย สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) เพื่อแสดงลักษณะการกระจายของข้อมูลในแต่ละกลุ่ม นอกจากนี้ยังใช้ Mann-Whitney U test ซึ่งเป็นสถิติแบบไม่อิงการแจกแจงปกติ (Non-parametric statistics) ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือในเชิงวิชาการ ผลลัพธ์ที่ได้จะช่วยสะท้อนถึงศักยภาพของนํ้านมผึ้งในฐานะสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดในด้านเวชสำอางหรือเภสัชภัณฑ์ในอนาคตได้

จากผลการศึกษาที่ได้พบว่า นมผึ้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ได้ดีที่สุด ด้วยค่า Zone of inhibition เฉลี่ย 20.67 ± 0.58 mm รองลงมาคือ *Staphylococcus aureus* ที่ให้ค่าเฉลี่ย 12.83 ± 0.76 mm ขณะที่ไม่สามารถยับยั้ง *Streptococcus pyogenes* ได้เลย จากการทดสอบ Agar Well Diffusion ซึ่งแสดงถึงคุณสมบัติแบบ Selective antibacterial spectrum ของนํ้านมผึ้ง ซึ่งเด่นชัดกับเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวอย่าง *C. acnes* ได้มากกว่าเชื้อชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ สำหรับการทดสอบด้วยวิธี Broth microdilution พบว่า นํ้านมผึ้งมีค่า MIC และ MBC ต่อ *S. aureus* และ *C. acnes* เท่ากับ $75,000 \mu\text{g/mL}$ ซึ่งแม้จะสูงกว่ายา Levofloxacin ที่มีค่า MIC และ MBC เพียง $5 \mu\text{g/mL}$ แต่แสดงให้เห็นว่านํ้านมผึ้งสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อได้จริง เพียงแต่ต้องใช้ในความเข้มข้นที่สูงกว่า

เมื่อวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา และเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเชื้อระหว่างกลุ่มด้วย Mann-Whitney U test พบว่า ความแตกต่างระหว่างน้ำมันผึ้งกับ Levofloxacin มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งในค่าขนาดวงยับยั้ง (Inhibition zone) และค่าความเข้มข้น MIC และ MBC ของเชื้อที่ทำการทดสอบ ยืนยันถึงข้อเท็จจริงว่า Levofloxacin มีประสิทธิภาพสูงกว่า แต่ในขณะเดียวกันก็ชี้ให้เห็นว่าน้ำมันผึ้งมีศักยภาพที่แท้จริงในการต้านเชื้อได้ โดยเฉพาะในเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* ซึ่งอาจนำไปต่อยอดการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางสำหรับดูแลผิวที่เป็นสิวในอนาคต นอกจากนี้ น้ำมันผึ้งยังมีจุดเด่นที่แตกต่างจากยาปฏิชีวนะ คือความปลอดภัยสูง ไม่ก่อการระคายเคือง และไม่มีความเสี่ยงต่อการเกิดการดื้อยา จึงถือเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในยุคที่การใช้ยาปฏิชีวนะต้องได้รับการควบคุมอย่างเคร่งครัด และปัญหาเชื้อดื้อยาทวีความรุนแรงมากขึ้น

5.2 อภิปรายผล

จากผลการทดสอบด้วยวิธี Agar Well Diffusion พบว่า น้ำมันผึ้งสามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Cutibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีในระดับหนึ่ง โดยมีค่าเฉลี่ยของขนาดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) เท่ากับ 20.67 ± 0.58 mm สำหรับ *C. acnes* และ 12.83 ± 0.76 mm สำหรับ *Staphylococcus aureus* ในขณะที่ *Streptococcus pyogenes* ไม่พบการยับยั้งการเจริญเติบโตเลย โดย Inhibition zone เท่ากับ 0.00 ± 0.00 mm ซึ่งผลลัพธ์นี้ชี้ให้เห็นว่าน้ำมันผึ้งมีการออกฤทธิ์เฉพาะต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด โดยเฉพาะในเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ซึ่งเป็นเชื้อแกรมบวกที่ไม่พึ่งออกซิเจนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวในมนุษย์ การยับยั้งเชื้อนี้ในระดับสูงถือเป็นจุดแข็งที่มีนัยสำคัญของน้ำมันผึ้ง และสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ระบุว่า น้ำมันผึ้งมีองค์ประกอบของกรดไขมัน เช่น 10-Hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) และโปรตีนที่ต้านจุลชีพ ซึ่งจะไปช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Uthaibutra et al., 2023; Hassanien, 2012) ในกรณีของ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อแกรมบวกอีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับแผลติดเชื้อฝี และหนอง พบว่า น้ำมันผึ้งให้ผลยับยั้งในระดับปานกลาง แม้จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อ แต่ประสิทธิภาพยังต่ำกว่ายาปฏิชีวนะมาตรฐาน Levofloxacin อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอาจแสดงให้เห็นถึงความจำเป็นในการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันผึ้ง หรืออาจจะแยกสารสำคัญเพื่อเพิ่มความจำเพาะในการออกฤทธิ์ (George et al., 2022) สำหรับ *Streptococcus pyogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อให้เกิดการอักเสบในลำคอและโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ ไม่พบการยับยั้งจากน้ำมันผึ้งเลย ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากลักษณะเฉพาะของผนังเซลล์เชื้อชนิดนี้ที่อาจต้านทานต่อสารออกฤทธิ์ในน้ำมันผึ้ง

หรือความสามารถของสารออกฤทธิ์ในการแพร่กระจายตัวผ่านเนื้อเยื่อของเชื้อชนิดนี้ได้ต่ำ (Lu et al., 2017) ดังนั้น ผลการทดลองด้วยวิธี Agar Well Diffusion จึงสอดคล้องกับสมมติฐานว่าน้ำมันผึ้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะในเชื้อแบคทีเรียอย่าง *Cutibacterium acnes* (Uthaibutra et al., 2023)

จากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ของน้ำมันผึ้งต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* พบว่า น้ำมันผึ้งมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 75,000 µg/mL สำหรับทั้งสองชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ขณะที่ Levofloxacin มีค่า MIC และ MBC ต่ำกว่ามากที่ 5 µg/mL ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าน้ำมันผึ้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดในระดับหนึ่ง แม้ว่าค่าความเข้มข้นที่จำเป็นจะต้องใช้จะสูงกว่ายาปฏิชีวนะมาตรฐานหลายเท่าตัวก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับข้อเท็จจริงว่าสารธรรมชาติส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านเชื้ออ่อนกว่ายาปฏิชีวนะ แต่มีความปลอดภัยต่อเซลล์มนุษย์สูงกว่า (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST, 2025; Sabatini et al., 2009) ในกรณีของ *Cutibacterium acnes* ซึ่งเป็นเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิวและพบได้ในรูขุมขน ผลการทดสอบ MIC และ MBC ของน้ำมันผึ้งให้ผลเชิงบวกในระดับที่สอดคล้องกับผลจากวิธี Agar well diffusion กล่าวคือ มีฤทธิ์ยับยั้งชัดเจน ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานว่าน้ำมันผึ้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้จริง โดยอาจเกิดจากกรดไขมันอิ่มตัว 10-HDA ที่สามารถแทรกซึมและยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Hassanien, 2012) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* แม้จะพบว่า MIC และ MBC เท่ากับ *Cutibacterium acnes* แต่ระดับความรุนแรงในการยับยั้งยังถือว่าอยู่ในระดับปานกลาง สอดคล้องกับผลที่ได้จาก Agar well diffusion ที่มี Inhibition zone ขนาดไม่สูงนัก ซึ่งอาจเกิดจากความแตกต่างของความไวต่อสารของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด (Uthaibutra et al., 2023) ทั้งนี้ ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันผึ้งที่ค่อนข้างสูง อาจเป็นข้อจำกัดที่ควรได้รับการแก้ไขในงานวิจัยต่อไป โดยเฉพาะการพัฒนาเทคนิคการแยกสารออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจง และการศึกษาการออกฤทธิ์แบบเสริมกัน (Synergistic) กับสารอื่น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโดยใช้ปริมาณน้อยลง (Collazo et al., 2021)

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า น้ำมันผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ได้ดี รองลงมาคือ *Staphylococcus aureus* และไม่มีฤทธิ์ต่อ *Streptococcus pyogenes* ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Uthaibutra et al. (2023) ที่พบว่า น้ำมันผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของ *Cutibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันผึ้งมักสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสำคัญ เช่น 10-HDA และ MRJPs (Major Royal Jelly Proteins)

โดย Hassanien et al. (2012) รายงานว่า น้ำนมผึ้งมืองค์ประกอบที่ออกฤทธิ์ด้านจุลชีพ เช่น Royalisin และ Jelleins I-III ซึ่งออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิด โดยเฉพาะ *Cutibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ทำให้สารในน้ำนมผึ้งสามารถเข้าไปแทรกซึม และออกฤทธิ์ได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ในขณะที่ Collazo et al. (2021) ได้ทำการศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านผิวของผลิตภัณฑ์จากนมผึ้ง และพบว่า สารสกัดนมผึ้งสามารถยับยั้ง *Cutibacterium acnes* ได้ดี พร้อมลดการอักเสบของเซลล์ผิวหนัง ซึ่งสนับสนุนผลการศึกษานี้ที่พบว่า *Cutibacterium acnes* เป็นเชื้อที่ตอบสนองต่อฤทธิ์ของน้ำนมผึ้งได้ดีที่สุด โดยแสดงให้เห็นผ่านทั้งค่า Inhibition zone และค่า MIC และ MBC ในอีกด้านหนึ่ง งานวิจัยของ Beig et al. (2024) รายงานว่า *Cutibacterium acnes* มีอัตราการดื้อยา Levofloxacin ลดลงจาก 10.8% เหลือเพียง 1.4% ระหว่างปี 2019–2023 ซึ่งบ่งบอกถึงการคงประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะกลุ่ม Fluoroquinolones ต่อเชื้อมีประสิทธิภาพ แต่ในขณะเดียวกันก็มีรายงานอัตราการดื้อยาสูงขึ้นในกลุ่มยา Erythromycin และยา Clindamycin ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาสิวในปัจจุบัน การค้นหาทางเลือกจากสารธรรมชาติ เช่น นมผึ้ง จึงมีความสำคัญมากขึ้นในบริบทของการลดการใช้ยาปฏิชีวนะและความเสี่ยงจากการดื้อยา สำหรับเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ยังมีรายงานน้อยเกี่ยวกับการตอบสนองต่อน้ำนมผึ้ง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยของ Sabatini et al. (2009) กล่าวถึงข้อจำกัดของสารออกฤทธิ์ในน้ำนมผึ้งที่อาจไม่สามารถเจาะทะลุผนังเซลล์ของเชื้อแกรมบวกบางชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงจัดได้ว่าเป็นเหตุผลที่สอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้ ซึ่งไม่พบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* เลยโดยสรุป ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับแนวโน้มของงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่ชี้ว่าน้ำนมผึ้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมบวกบางชนิด โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* แต่ยังไม่มีความชัดเจนที่แน่ชัดต่อ *Streptococcus pyogenes* ซึ่งเป็นช่องว่างที่ควรได้รับการศึกษาต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

แม้ว่าผลการศึกษานี้จะแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของน้ำนมผึ้งที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้อย่างชัดเจนนั้น แต่ก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการที่ควรได้รับการพิจารณาและปรับปรุงในการศึกษาในอนาคต ประการแรกคือ การทดสอบ MIC และ MBC ใช้เพียงสารน้ำนมผึ้งในรูปแบบดิบ (crude royal jelly) โดยไม่มีการแยกสารที่ออกฤทธิ์เฉพาะ ส่งผลให้ความเข้มข้นที่จำเป็นต่อการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อยังอยู่ในระดับสูงเมื่อเทียบกับสารสังเคราะห์อย่าง Levofloxacin ซึ่งอาจส่งผลต่อการนำไปใช้จริงในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความเข้มข้นต่ำและต้นทุนต่ำ

(Hassanien et al., 2012) นอกจากนี้ การศึกษานี้ไม่ได้ประเมินฤทธิ์ร่วม (synergistic effect) กับสารอื่น ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันมัสในทางคลินิก เนื่องจากในสภาพแวดล้อมของผิวหนังหรือการมีแผลเปิดนั้น อาจมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น เอนไซม์จากเซลล์มนุษย์หรือสารอื่น ๆ ที่อยู่ในเวกซ์ทรีร่วมด้วย การทดสอบฤทธิ์ร่วมในอนาคตจึงเป็นสิ่งที่สำคัญที่จะช่วยให้เข้าใจศักยภาพของน้ำมันมัสได้ชัดเจนมากขึ้น (Collazo et al., 2021) สุดท้ายการทดสอบนี้ได้ถูกจำกัดเฉพาะเชื้อแบคทีเรียเพียง 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Cutibacterium acnes* และ *Streptococcus pyogenes* โดยยังไม่ได้ครอบคลุมเชื้ออื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อทางผิวหนัง เช่น *Pseudomonas aeruginosa* หรือ *Escherichia coli* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีความสำคัญในการพัฒนาเวกซ์ทรีในวงกว้าง

หนึ่งในข้อได้เปรียบที่สำคัญของน้ำมันมัสเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ คือ ความปลอดภัยในการใช้งาน โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ดูแลผิวหนังและจำพวกเวชสำอาง จากการรายงาน Safety Data Sheet ของบริษัท Natural Sourcing, LLC. ที่ได้รับรองจากมาตรฐานด้านความปลอดภัยของสหรัฐอเมริกา (Occupational Safety and Health Administration; OSHA) ระบุว่า น้ำมันมัสจัดอยู่ในกลุ่มสารที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิว และสามารถใช้ได้แม้ในผู้ที่ผิวแพ้ง่าย นอกจากนี้พบว่าน้ำมันมัสยังมีคุณสมบัติช่วยบำรุงผิว ชะลอความชรา และต้านการอักเสบ ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ยาปฏิชีวนะทั่วไปไม่มี อีกข้อได้เปรียบสำคัญคือ น้ำมันมัสไม่กระตุ้นให้เกิดการดื้อยา ซึ่งถือเป็นปัญหาใหญ่ในวงการแพทย์ในปัจจุบัน ยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่นยา Clindamycin และยา Erythromycin มีรายงานอัตราการดื้อยาที่เพิ่มขึ้นในเชื้อ *Cutibacterium acnes* โดยเฉพาะในผู้ป่วยสิวที่ใช้ยารักษาในระยะยาว (Beig et al., 2024) ในขณะที่สารธรรมชาติเช่น นมผึ้ง มีโอกาสกระตุ้นการดื้อยาน้อยกว่าเนื่องจากออกฤทธิ์ผ่านหลายกลไกพร้อมกัน เช่น การยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ การรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ และยับยั้งการสื่อสารระหว่างเซลล์ (Hassanien et al., 2012) นอกจากนี้ นมผึ้งยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายชนิด เช่น กรดไขมันสายกลาง (10-HDA), โพรตีน MRJPs, และเปปไทด์ต้านจุลชีพอย่าง Royalisin และ Jelleins I-III ซึ่งให้ผลด้านเชื้อแบบผสมผสานช่วยลดโอกาสที่เชื้อแบคทีเรียจะพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยา (Antimicrobial resistance) (George et al., 2022) ต่อมาข้อได้เปรียบเชิงสิ่งแวดล้อมก็เป็นอีกประเด็นที่ควรกล่าวถึง ยาปฏิชีวนะที่มีการใช้ทางการแพทย์เมื่อเข้าสู่สิ่งแวดล้อมสามารถก่อให้เกิดการสะสมของยาปฏิชีวนะในน้ำและดิน ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ และส่งเสริมการเกิดเชื้อดื้อยาในสิ่งแวดล้อม แต่สารชีวภาพจากธรรมชาติ เช่น นมผึ้ง มักย่อยสลายได้ดี และไม่ตกค้างในธรรมชาติ (Sabatini et al., 2009) จากเหตุผลข้างต้นจึงสามารถสรุปได้ว่า นมผึ้งนั้นมีศักยภาพในการเป็นทางเลือกที่ปลอดภัย และมีข้อได้เปรียบหลายประการเหนือกว่ายาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะในการพัฒนาเพื่อใช้ในกลุ่มเวชสำอางและผลิตภัณฑ์ดูแลผิว

โอกาสและแนวทางในการพัฒนางานวิจัยต่อยอด

จากผลการศึกษาพบว่า นมผึ้ง สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Cutibacterium acnes* ได้ แม้ประสิทธิภาพจะต่ำกว่ายามาตรฐาน Levofloxacin และต้องใช้ความเข้มข้นที่สูง แต่ก็ยังมีศักยภาพเป็นสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติที่น่าสนใจ ดังนั้นในอนาคตจึงสามารถทำการศึกษาต่อยอดได้ดังนี้

5.3.1 ให้ทดลองโดยเพิ่มความเข้มข้นของนมผึ้ง โดยใช้ความเข้มข้นมากกว่า 300 mg/mL เช่น 350–500 mg/mL เพื่อดูว่าขนาด Zone of inhibition และค่า MIC/MBC จะเพิ่มขึ้นหรือไม่

5.3.2 ทดสอบเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับงานวิจัยนี้ เช่น ใช้ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ดื้อยา คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) หรืออาจใช้เชื้อ *Cutibacterium acnes* อื่นหลาย ๆ สายพันธุ์ เพื่อดูความแตกต่างของผลการทดลอง (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST, 2025)

5.3.3 เปรียบเทียบกับสารต้านจุลชีพธรรมชาติอื่น เช่น เหงือกปลาหมอ พญาขอ เปลือกมังคุด พลุ น้ำมันทีทรี ว่านหางจระเข้ และบัวบก เพื่อหาว่าสารใดมีประสิทธิภาพดีกว่าหรือใช้ร่วมกันแล้วให้ผลเสริมฤทธิ์ (ชาฟาวี มะแม และคณะ, 2565; Arbab et al., 2021; Hammer et al., 2012)

5.3.4 ปรับวิธีการสกัดหรือเตรียมสาร โดยอาจลองใช้น้ำมันผึ้งสด หรือนมผึ้งแช่เย็นเทียบกับนมผึ้งผงว่ามีผลต่างกันหรือไม่ หรืออาจใช้ตัวทำละลายต่างกัน เช่น น้ำกลั่นกับเอทานอล เพื่อตรวจสอบการละลายและประสิทธิภาพ

5.3.5 ประเมินความคงตัวของนมผึ้ง จากการเก็บตัวอย่างในอุณหภูมิต่าง ๆ เช่น ตู้เย็นและอุณหภูมิห้อง แล้วทดสอบประสิทธิภาพซ้ำ เพื่อดูว่าฤทธิ์เปลี่ยนไปหรือไม่

รายการอ้างอิง

- ชาฟาวี มะแม, นัสรีย์ แวมะ, มูฮำหมัดเปาซี คาเร้ง, อนัส เบ็ญจมาตร, ศิริรัตน์ ศรีรักษา และพิรุณรัตน์ แซ่ลิ้ม. (2565). การศึกษาความคงตัวและฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรรไทยในการต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคบนผิวหนัง. *วารสารหมอยาไทยวิชัย*, 8(1), 115–128.
<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/ttm/article/view/256147/176079>
- ปฐมา จันทพล, อำพล บุญเพียร, ฐิติมาพร แสงจันทร์ และณัฐฉิ พุกสุข. (2566). การทบทวนวรรณกรรมตำรับยาสมุนไพรรักษาโรคผิวหนังของภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย. *วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก*, 21(1), 175–185.
- ศูนย์บริหารจัดการความปลอดภัย อาชีวอนามัย และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. (2565). *แพลตฟอร์มการเรียนรู้ตลอดชีวิต (Lifelong education) CMU MOOC. หลักสูตรอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพเบื้องต้น มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*.
<https://learning.mooc.cmu.ac.th/courses/230>
- Araki, K., Miyata, Y., Ohba, K., Nakamura, Y., Matsuo, T., Mochizuki, Y., & Sakai, H. (2020). Correction: Oral intake of royal jelly has protective effects against tyrosine kinase inhibitor-induced toxicity in patients with renal cell carcinoma: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicines*, 7(11), 71.
<https://doi.org/10.3390/medicines7110071>
- Arbab, S., Ullah, H., Wang, W., Wei, X., Ahmad, S. U., Wu, L., & Zhang, J. (2021). Comparative study of antimicrobial action of Aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 2061–2067. <https://doi.org/10.1002/vms3.488>
- Bagameri, L., Baci, G.-M., & Dezmirean, D. S. (2022). Royal jelly as a nutraceutical natural product with a focus on its antibacterial activity. *Pharmaceutics*, 14(6), 1142. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061142>
- Beig, M., Shirazi, O., Ebrahimi, E., Zare Banadkouki, A., Golab, N., & Sholeh, M. (2024). Prevalence of antibiotic-resistant Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes) isolates: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 39, 82–91.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.07.005>

- Bílikova, K., Huang, S.-C., Lin, I.-P., Šimuth, J., & Peng, C.-C. (2015). Structure and antimicrobial activity relationship of royalisin, an antimicrobial peptide from royal jelly of *Apis mellifera*. *Peptides*, *68*, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.03.001>
- Boselli, E., Caboni, M. F., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., & Lercker, G. (2003). Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. *Apidologie*, *34*(2), 129–137. <https://doi.org/10.1051/apido:2003011>
- Brudzynski, K., Sjaarda, C., & Lannigan, R. (2015). MRJP1-containing glycoproteins isolated from honey, a novel antibacterial drug candidate with broad spectrum activity against multi-drug-resistant clinical isolates. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 711. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00711>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *Antibiotic resistance threats in the United States*. U.S. Department of Health & Human Services. <https://www.cdc.gov/drugresistance>
- Ciulu, M., Floris, I., Nurchi, V. M., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Spano, N., & Sanna, G. (2015). A possible freshness marker for royal jelly: Formation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde as a function of storage temperature and time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(16), 4190–4195. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00873>
- Cockerill, F. R., III, Wikler, M. A., Alder, J., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Ferraro, M. J., . . . Zimmer, B. L. (2012). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard Eleventh edition (CLSI document M02-A11, Vol. 32, No. 1)*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Collazo, N., Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Otero, P., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Health promoting properties of bee royal jelly: Food of the queens. *Nutrients*, *13*(2), 543. <https://doi.org/10.3390/nu13020543>
- Dessinioti, C., & Katsambas, A. (2017). *Propionibacterium acnes* and antimicrobial resistance in acne. *Clinics in Dermatology*, *35*(2), 163–167. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.10.008>

- El-Gayar, M. H., Ishak, R. A. H., Esmat, A., Aboulwafa, M. M., & Aboshanab, K. M. (2022). Evaluation of lyophilized royal jelly and garlic extract emulgels using a murine model infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *AMB Express*, 12, 37. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01378-x>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2025). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and diameters zones*. <https://mic.eucast.org/search/>
- Fontana, R., Mendes, M. A., Monson de Souza, B., Konno, K., Marcondes César, L. M., Malaspina, O., . . . Palma, M. S. (2004). Jelleines: A family of antimicrobial peptides from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25(6), 919–928. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.03.016>
- George, S., Muhaj, F. F., Nguyen, C. D., & Tying, S. K. (2022). Part I: Antimicrobial resistance: Bacterial pathogens of dermatologic significance and implications of rising resistance. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 86(6), 1189–1204. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2021.11.066>
- Gooskens, J., De Neeling, A. J., Willems, R. J., Van 't Wout, J. W., & Kuijper, E. J. (2005). Streptococcal toxic shock syndrome by an iMLS resistant M type 77 *Streptococcus pyogenes* in the Netherlands. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 37(2), 85–89. <https://doi.org/10.1080/00365540510027192>
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2012). Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(2), 909–915. <https://doi.org/10.1128/AAC.05741-11>
- Hassanien, M. F. R. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 39–52. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.12.007>

- Hu, H., Wei, Q., Sun, Z., Zhang, X., Ma, C., Feng, M., . . . Han, B. (2021). Development of a freshness assay for royal jelly based on the temperature- and time-dependent changes of antimicrobial effectiveness and proteome dynamics of royal jelly proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(36), 10731–10740. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02843>
- IBM Corp. (2015). *IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0* [Computer software]. Mae Fah Luang University.
- Imada, T., Nakamura, S., Kitamura, N., Shibuya, I., & Tsubota, K. (2014). Oral administration of royal jelly restores tear secretion capacity in rat blink-suppressed dry eye model by modulating lacrimal gland function. *PLOS ONE*, 9(9), e106338. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106338>
- Inoue, S., Kawashima, M., Hisamura, R., Imada, T., Izuta, Y., Nakamura, S., . . . Tsubota, K. (2017). Clinical evaluation of a royal jelly supplementation for the restoration of dry eye: A prospective randomized double-blind placebo-controlled study and an experimental mouse model. *PLOS ONE*, 12(1), e0169069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169069>
- Kausar, S. H., & More, V. R. (2019). Determination of medium Lethal dose (LD 50 value) for oral acute toxicity of royal jelly. *Saudi Jordanian Investment Fund*, 8(6), 475-481. <https://doi.org/10.20959/wjpps20196-13954>
- Ketpanyapong, W., & Itharat, A. (2016). Antibacterial activity of Thai medicinal plant extracts against microorganism isolated from post-weaning diarrhea in piglets. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 99(Suppl. 4), S203–S210. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29926714/>
- Khazaei, M., Ansarian, A., & Ghanbari, E. (2018). New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: A review. *Journal of Dietary Supplements*, 15(5), 757–775. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1363843>
- Kondo, S., Temrangsee, P., Sattaponpan, C., & Itharat, A. (2017). Antibacterial activity of Thai herbal plants and development of hand washing gel product. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 100(Suppl. 5), S18–S22. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/JMAT/10987741.pdf>

- Lin, Y., Zhang, M., Wang, L., Lin, T., Wang, G., Peng, J., . . . Su, S. (2020). The in vitro and in vivo wound-healing effects of royal jelly derived from *Apis mellifera* L. during blossom seasons of *Castanea mollissima* Bl. and *Brassica napus* L. in South China exhibited distinct patterns. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 357. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03138-5>
- Lu, B., Fang, Y., Fan, Y., Chen, X., Wang, J., Zeng, J., . . . Wang, D. (2017). High prevalence of macrolide-resistance and molecular characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates circulating in China from 2009 to 2016. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1052. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01052>
- Mahdian, Z., Amiri, F., Mohammadi, Z., Farzadinia, P., Safizadeh, F., Zare, Z., . . . Mohammadi Tahroodi, F. (2020). Effects of topical application of royal jelly on second-degree burn wound healing in male rats. *International Journal of Medical Laboratory*, 7(4), 289–299. <https://doi.org/10.18502/ijml.v7i4.4799>
- Miyata, Y., Araki, K., Ohba, K., Mastuo, T., Nakamura, Y., Yuno, T., . . . Sakai, H. (2020). Oral intake of royal jelly improves anti-cancer effects and suppresses adverse events of molecular targeted therapy by regulating TNF- α and TGF- β in renal cell carcinoma: A preliminary study based on a randomized double-blind clinical trial. *Molecular and Clinical Oncology*, 13(4), 29. <https://doi.org/10.3892/mco.2020.2099>
- Morita, H., Ikeda, T., Kajita, K., Fujioka, K., Mori, I., Okada, H., . . . Ishizuka, T. (2012). Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutrition Journal*, 11, 77. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-77>
- Moselhy, W. A., Fawzy, A. M., & Kamel, A. A. (2013). An evaluation of the potent antimicrobial effects and unsaponifiable matter analysis of the royal jelly. *Life Science Journal*, 10(2), 290–296. https://www.researchgate.net/publication/288046226_An_evaluation_of_the_potent_antimicrobial_effects_and_unsaponifiable_matter_analysis_of_the_royal_jelly
- National Center for Biotechnology Information. (2015). *PubChem Compound Summary for CID 149096, Levofloxacin*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levofloxacin>

- Natural Sourcing, LLC. (2023, August 8). *Safety data sheet: Royal jelly powdered herbal extract 1X (EXTROYJEL1XCN100)*.
https://www.praannaturals.com/downloads/msds/SDS_Powdered_Extract_Royal_Jelly_1X_EXTROYJEL1XCN100.pdf
- Ohba, K., Miyata, Y., Shinzato, T., Funakoshi, S., Maeda, K., Matsuo, T., . . . Sakai, H. (2021). Effect of oral intake of royal jelly on endothelium function in hemodialysis patients: Study protocol for multicenter, double-blind, randomized control trial. *Trials*, 22, 950. <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05926-x>
- Oršolić, N., & Jazvinščak Jembrek, M. (2024). Royal jelly: Biological action and health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 6023. <https://doi.org/10.3390/ijms25116023>
- Pesola, A. K., Sihvonen, R., Lindholm, L., & Pätäri-Sampo, A. (2015). Clindamycin resistant emm33 *Streptococcus pyogenes* emerged among invasive infections in Helsinki metropolitan area, Finland, 2012 to 2013. *Euro Surveillance*, 20(18), 21117. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2015.20.18.21117>
- Rashidi, M. K., Mirazi, N., & Hosseini, A. (2016). Effect of topical mixture of honey, royal jelly and olive oil-propolis extract on skin wound healing in diabetic rats. *Wound Medicine*, 12, 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2015.12.001>
- Reynolds, R. V., Yeung, H., Cheng, C. E., Cook-Bolden, F., Desai, S. R., Druby, K. M., . . . Barbieri, J. S. (2024). Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 90(5), 1006.e1–1006.e30. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2023.12.017>
- Rizki, P. A., Krisnamurti, D. G. B., Reksodiputro, M. H., Farida, S., Koento, T., Rachmadi, L., . . . Boesoirie, S. F. (2023). Stability evaluation of royal jelly gel. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 71(2), 89–96. <https://doi.org/10.11118/actaun.2023.007>
- Roudeau, A., Corvec, S., Heym, B., Ruffier d'Epenoux, L., Lidove, O., & Zeller, V. (2024). Unusual *Cutibacterium acnes* splenic abscess with bacteremia in an immunocompetent man: Phylotyping and clonal complex analysis. *BMC Infectious Diseases*, 24, 601. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09467-x>

- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., & Bogdanov, S. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.3896/IBRA.4.01.1.04>
- Sagona, S., Coppola, F., Giannaccini, G., Betti, L., Palego, L., Tafi, E., . . . Felicioli, A. (2022). Impact of different storage temperature on the enzymatic activity of *Apis mellifera* royal jelly. *Foods*, 11(20), 3165. <https://doi.org/10.3390/foods11203165>
- Salar-Vidal, L., Aguilera-Correa, J. J., Brüggemann, H., Achermann, Y., Esteban, J., & ESGIAI (ESCMID Study Group for Implant-Associated Infections) for the Study of Cutibacterium Infections. (2022). Microbiological characterization of *Cutibacterium acnes* strains isolated from prosthetic joint infections. *Antibiotics*, 11(9), 1260. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091260>
- Šedivá, M., Laho, M., Kohútová, L., Mojžišová, A., Majtán, J., & Klaudiny, J. (2018). 10-HDA, a major fatty acid of royal jelly, exhibits pH dependent growth-inhibitory activity against different strains of *Paenibacillus* larvae. *Molecules*, 23(12), 3236. <https://doi.org/10.3390/molecules23123236>
- Shen, L., Liu, D., Li, M., Jin, F., Din, M., Parnell, L. D., . . . Lai, C.-Q. (2012). Mechanism of action of recombinant Acc-Royalisin from royal jelly of Asian honeybee against Gram-positive bacteria. *PLOS ONE*, 7(10), e47194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047194>
- Shirzad, M., Yousofi, M., Zamanzad, B., Sedaghat, A., Hosseini, M., Shahinfard, N., & Shirzad, H. (2014). Effects of royal jelly on sterile skin cut repair. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 3(2), 97–100. https://herbmedpharmacol.com/Article/JHP_20150527163601
- Siavash, M., Shokri, S., Haghighi, S., Shahtalebi, M. A., & Farajzadehgan, Z. (2015). The efficacy of topical royal jelly on healing of diabetic foot ulcers: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *International Wound Journal*, 12(2), 137–142. <https://doi.org/10.1111/iwj.12063>

- Stevens, D. L., Bisno, A. L., Chambers, H. F., Dellinger, E. P., Goldstein, E. J. C., Gorbach, S. L., . . . Wade, J. C. (2014). Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 59(2), e10–e52. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu444>
- Supabphol, R. (2002). Update in Royal Jelly. *Vajira Medical Journal: Journal of Urban Medicine*, 46(1), 79–85.
- Uthaibutra, V., Kaewkod, T., Prapawilai, P., Pandith, H., & Tragoolpua, Y. (2023). Inhibition of skin pathogenic bacteria, antioxidant and anti-inflammatory activity of royal jelly from Northern Thailand. *Molecules*, 28(3), 996. <https://doi.org/10.3390/molecules28030996>
- Weinstein, M. P., Lewis, J. S., II, Acharya, A. S., Campeau, S., Cullen, S. K., Gold, H., . . . Tamma, Y. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (30th ed., CLSI document M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Yamauchi, K., Kogashiwa, Y., Moro, Y., & Kohno, N. (2014). The effect of topical application of royal jelly on chemoradiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer: A preliminary study. *International Journal of Otolaryngology*, 2014, 974967. <https://doi.org/10.1155/2014/974967>
- Yang, Y.-C., Chou, W.-M., Widowati, D. A., Lin, I.-P., & Peng, C.-C. (2018). 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 202. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2267-9>
- Yousefi, B., Ghaderi, S., Rezapoor-Lactooyi, A., Amiri, N., Verdi, J., & Shoaee-Hassani, A. (2012). Hydroxy decenoic acid down regulates gtfB and gtfC expression and prevents *Streptococcus mutans* adherence to the cell surfaces. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11(21). <https://doi.org/10.1186/1476-0711-11-21>

ภาคผนวก ก

เอกสารรับรองการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มผึ้ง : มกษ. 8200-2559

 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ให้ใบรับรองฉบับนี้เพื่อแสดงว่า ฟาร์มผึ้งสิทธิชัย 531 เลขที่ 143 หมู่ที่ 8 ตำบลบ้านด้าย อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ได้รับการรับรองการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มผึ้ง : มกษ. 8200-2559 หมายเลขการรับรอง กษ 02-8200-57-501-050193 GAP รับรอง ณ วันที่ 8 ตุลาคม 2567 (ต่ออายุ) ถึง วันที่ 7 ตุลาคม 2570 (นายศราวุธ เขียวศรี) นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ รักษาการแทน ปศุสัตว์เขต 5	
	

ภาคผนวก ข

เอกสารรับรองการผ่านการเรียนหลักสูตรอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพเบื้องต้น



ประวัติผู้ประพันธ์

ชื่อ	มนสรณ์ ลีสีสุข
ประวัติการศึกษา	
2563	ปริญญาตรี เกษตรศาสตรบัณฑิต สาขาการบริหารทางเกษตรกรรม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ประวัติการทำงาน	
2568 - ปัจจุบัน	เภสัชกร โรงพยาบาลเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร
2566 - 2567	เภสัชกร ร้านยาอุ่นใจ กรุงเทพมหานคร
2563 - 2565	เภสัชกร โรงพยาบาลตาพระยา จังหวัดสระแก้ว

