

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวของเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารจาก เชื้อ *Brevibacillus laterosporus*

Anti-Acne Causing Bacteria Activity of Acne Gel Composed with Biocompounds Produced from *Brevibacillus laterosporus*

มนทล เลิศคนวานิชกุล^{1,2*}, กมลทิพย์ เต๊ะชวน¹, ปัทมาสน์ ลิ้มวรพันธุ์¹ และอัญชลี สงวนพงศ์¹

Monthon Lertcanawanichakul^{1,2*}, Kamonthip Tehsuan¹, Pattamas Limvorapan¹ and Aunchalee Sahoyngpong¹

บทคัดย่อ

เจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของโปรตีนชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้มาจากน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brevibacillus laterosporus* ที่ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 0.087 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ในระดับหลอดทดลองต้าน *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* ที่มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้ดีกว่า *Propionibacterium acne* และให้ผลใกล้เคียงกับเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน อีกทั้งไม่ก่อให้เกิดอาการผื่นแพ้เมื่อทดสอบด้วยวิธี open patch test จึงน่าจะเป็นไปได้ที่จะมีการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ผสมลงในเจลแต้มสิว รวมทั้งอาจเพิ่มสารที่มีฤทธิ์ที่ดีในการต้านแบคทีเรียก่อสิวเพื่อประโยชน์ในการรักษาแลสุขภาพผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: เจลแต้มสิว *Brevibacillus laterosporus* แบคทีเรียก่อสิว

Abstract

Anti-acne gel composed with partially purified biocompounds (PPBs) prepared from culture broth of *Brevibacillus laterosporus* at a protein concentration of 0.087 mg/ml could *in-vitro* dominantly inhibit bacteria causing acne in a group of Staphylococci (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*) but did not inhibit *Propionibacterium acnes*. Moreover, it revealed anti-acne gel composed with PPBs could inhibit the growth of Staphylococci similar to commercial anti-acne product composed with Clindamycin. Interestingly, anti-acne gel with of PPBs did not cause contact dermatitis. It is possible to study the appropriate concentration to mix in acne gel. In addition, it may add the active ingredients to increase anti-bacterial activity against bacteria causing acne for acne treatment on healthy skin.

Keywords: Acne Gel, *Brevibacillus laterosporus*, Acne-Causing Bacteria

¹ รศ.ดร., สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ และหน่วยวิจัยการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

² นักวิจัย, สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

¹ Assoc. Prof. Dr., Department of Medical Technology and The Research Unit of Natural Products Utilization, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80161

² Researcher, School of Allied Health Sciences, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80161

* Corresponding author: Tel.: 075-672180. E-mail address: lmonthon55@gmail.com

บทนำ

สิวเป็นโรคผิวหนังชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากโดยไม่ได้อำกัจะเกิดในวัยรุ่นหากแต่สามารถพบเห็นได้บ่อยขึ้นในผู้ที่พ้นการเป็นวัยรุ่นไปแล้ว สาเหตุของการเกิดสิวมักมาจากความผิดปกติของระบบต่อมไขมัน (Sebaceous) ของรูขุมขนที่ผิวหนังและอาจมีสาเหตุอื่นๆ ที่แตกต่างกันออกไป อีกทั้งจากฮอร์โมน การผลิตไขมันมากขึ้นและร่วมกับเซลล์ผิวหนังและเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะ *Propionibacterium acnes* โดยตำแหน่งที่เกิดสิวเป็นบริเวณที่มีไขมันมากได้แก่ หน้า ไหล่ หลัง ออก ซึ่งหากมีการอุดตันของทางเดินไขมันจากต่อมไขมันก็จะทำให้เกิดสิวหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ สิวธรรมดาหรือที่เรียกว่า “acne vulgaris” สิวหัวดำ สิวที่มีการอักเสบเป็นหนอง และมีตุ่มหนองที่เกิดจากการอุดตันที่เริ่มมาจากสิวดูดตัน (Comedone) ซึ่งหากเกิดการอุดตันจะทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจนในรูขุมขนและมีผลทำให้ *P. acnes* เจริญเติบโตได้ดีและย่อยสลายไขมันก่อเกิดเป็นสารที่มีความสามารถชักนำเม็ดเลือดขาวมาที่บริเวณนั้นและก่อให้เกิดการอักเสบตามมาจึงเกิดเป็นสิวกอักเสบ [1-2] นอกจากแบคทีเรียดังกล่าวแล้วยังมีกลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่บนผิวหนัง เช่น *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ต่างๆ ออกฤทธิ์กระตุ้นการก่อเกิดสิวได้ สำหรับการรักษาสิวทำได้โดยการใชยาปฏิชีวนะต่างๆ ซึ่งมีทั้งผลดีและผลข้างเคียงจากยาปฏิชีวนะนั้น เช่น คลินดามัยซิน (Clindamycin) เป็นยาแต้มสิวที่หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการดื้อยา ไม่เกิดผลในการรักษาทำให้การรักษาเกิดได้ยากขึ้น [3] จึงมีความพยายามนำเอาสารสกัดจากสมุนไพรมาพัฒนาใช้เป็นเจลในการรักษาสิว เช่น เจลรักษาสิวจากสารสกัดของเปลือกมังคุด [4] เจลรักษาสิวจากการสกัดน้ำมันหอมระเหยของยูคาลิปตัสและฝรั่ง [5] เจลรักษาสิวจากการสกัดของกระป๋องเจ็ดตัว [2] แต่รายงานการวิจัยรักษาสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารที่ผลิตออกมาจากเชื้อจุลินทรีย์อยู่น้อย ซึ่งทางกลุ่มวิจัยได้สนใจศึกษาการเตรียมเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์จาก *Brevibacillus laterosporus* ในการนำมาใช้รักษาสิว เนื่องจากได้มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อดังกล่าวที่แยกออกมาได้จากอากาศสามารถผลิตชีวสารออกฤทธิ์ปฏิชีวนะทำลายยีสต์ *Candida albicans* และกลุ่ม viridans *Streptococci* รวมไปถึงทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำลายได้ และออกฤทธิ์ได้ดีในการต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus* ที่ดื้อยา methicillin และ *S. aureus* [6] ที่ได้เคยถูกรายงานว่าอาจเป็นสาเหตุร่วมของการเกิดสิว [2] ดังนั้นจึงสนใจนำชีวสารดังกล่าวจากแบคทีเรีย *Brevibacillus laterosporus* มาศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวในกลุ่ม *Staphylococci* และ *P. acnes* เพื่อศึกษาความคงตัวของฤทธิ์ปฏิชีวนะของชีวสารเมื่อผสมอยู่ในสารเคมีที่เป็นส่วนผสมในการเตรียมเจลแต้มสิวและเพื่อทราบข้อมูลเบื้องต้นในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมสำหรับพัฒนาเป็นเจลแต้มสิวที่ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Brevibacillus laterosporus*

แบคทีเรีย *Brevibacillus laterosporus* ที่ใช้เป็นแหล่งของชีวสารบริสุทธิ์ในการทดลองนี้ ถูกคัดแยกได้มาจากตัวอย่างอากาศภายในมหาวิทยาลัยทักษิณ โดยทีมวิจัยของ รศ. ดร.มณฑล เลิศคนาวินชกุล

นำโคโลนีเดียวของแบคทีเรีย *B. laterosporus* ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (มล.) ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร (มม.) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (°ซ) ในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อแบบเขย่าได้ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง (ชม.) จากนั้นนำสารแขวนลอยเชื้อ (1 %) ไปถ่ายใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 150 มล. ในขวด Duran ขนาด 500 มล. บ่มเพาะเชื้อที่สภาวะเดิมดังกล่าวข้างต้นและปั่นแยกตะกอนเชื้อด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที แยกเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อ (Culture Broth) เพื่อเตรียมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์

การเตรียมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ [7]

นำน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ในขั้นต้นไปตกตะกอนด้วยผงแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นอิ่มตัว 50 % โดยค่อยๆ เติมผงแอมโมเนียมซัลเฟตครั้งละเล็กน้อย และกวนปั่นสารจนกระทั่งผงแอมโมเนียมซัลเฟตละลายจนหมดและตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. โดยกวนปั่นเบาๆ ตลอดทั้งคืน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที แยกเก็บตะกอนและละลายตะกอนด้วย 0.85 % NaCl ปริมาตร 3-4 มล. หรือจนตะกอนละลายหมดแต่ไม่ควรเกิน 10 มล. แล้วนำไปกำจัดแอมโมเนียมซัลเฟตด้วยการแยกสารผ่านเยื่อ (Dialysis) และตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford [8]

การทำเจลที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์จาก *Brevibacillus laterosporus* [4]

เติมสารตัวภาคที่ 1 ได้แก่ Carbopols 940 (ร้อยละ 0.25), sterile distilled water (ร้อยละ 94.00) และ Polysorbate 20 (ร้อยละ 1) ลงในปิกเกอร์แล้วผสมให้เข้ากันที่ 70 °ซ จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้อุณหภูมิเย็นลงเหลือ 50 °ซ แล้วเติมสารในวัตถุภาคที่ 2 ได้แก่ Triethanolamine (ร้อยละ 0.25) ลงไปจนสารเข้ากันเป็นเนื้อเดียว จึงค่อยๆ เติมวัตถุภาคที่ 3 ได้แก่ Panthenol (ร้อยละ 0.5) และชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จาก *B. laterosporus* (ร้อยละ 4) ลงไปจนเบาๆ จนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

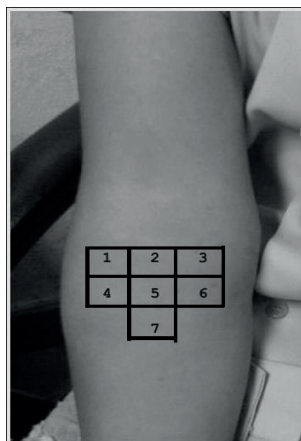
การทดสอบฤทธิ์ด้านแบคทีเรียโดยชีวสารกึ่งบริสุทธิ์และเจลที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ [ดัดแปลงจาก 9]

นำแบคทีเรียก่อสิวทั้ง 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes* มาแยกปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับ McFarland No. 0.1 (มีปริมาณเชื้อ 3×10^7 CFU/ ml) แยกเก็บใส่ในหลอด Microcentrifuge Tube หลอดละ 500 มล. แล้วใช้ลูปมาตรฐานขนาด 0.001 มล. ที่ปราศจากเชื้อจุ่มสารแขวนลอยเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นจำนวน 1 ลูป มาป้ายให้ทั่วพื้นผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MHA (Control Plate)

ใช้กระบอกฉีดขนาด 1 มล. ดูดสารทดสอบ (ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์และเจล) ที่ความเจือจาง 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นตั้งต้นและที่เจือจาง 2 เท่าอีก 2 ระดับปริมาตรหลอดละ 500 มล. ใส่ในหลอด Microcentrifuge Tube ที่มีแบคทีเรียก่อสิวแล้วผสมส่วนผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวและตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วใช้ลูปมาตรฐานดังกล่าวข้างต้นไปจุ่มส่วนผสมจำนวน 1 ลูป ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MHA บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. (*P. acnes* ต้องบ่มใน Candle Jar) ทำการบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมดคูณด้วย 10^3 และคำนวณร้อยละการต้านแบคทีเรียดัชนีของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ เจลที่มีส่วนผสมของชีวสารและเจลแฉะผิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน แล้ววิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อหาค่าความแตกต่างของการต้านแบคทีเรียดัชนีทั้ง 3 ชนิดด้วยวิธี One-Way Anova

การทดสอบผลข้างเคียงของเจลแฉะผิวที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ ด้วยวิธี Open patch test [10-11]: เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เลขที่ 013/ปี พ.ศ. 2552

นำสารทดสอบทุกรูปแบบ (ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์/ เจลที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์) ที่ระดับความเข้มข้นตั้งต้นและที่เจือจาง 2 เท่าคือไปอีก 2 ความเข้มข้นๆ ละ 20 มล. มาหยดบนผิวหนังใต้ท้องแขนดังภาพที่ 1 ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีจึงสังเกตผื่นแพ้บนผิวหนังหรือรวมถึงมีอาการคันว่ามีปรากฏหรือไม่



ภาพที่ 1 การทดสอบผลข้างเคียงที่เกิดจากเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์จาก *Brevibacillus laterosporus*

ด้วยวิธี patch test แบบ open patch test

1, 2, 3 คือ ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ตั้งต้นและเจือจาง 1:2, 1:4 ตามลำดับ

4, 5, 6 คือ เจลผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ตั้งต้นและเจือจาง 1:2, 1:4 ตามลำดับ

7 คือ เจลที่ไม่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์

ผลการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อผิวของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์และเจลที่มีชีวสารกึ่งบริสุทธิ์

จากการทดสอบเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ เจลที่มีชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ และเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน โดยใช้ loop มาตรฐาน 0.001 มาขีด และนับจำนวนโคโลนีเปรียบเทียบกับ control ซึ่งมีปริมาณเซลล์ตั้งต้นเท่ากับ 3×10^7 CFU/ ml พบว่าชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นของโปรตีนตั้งต้นเท่ากับ 2.3 มก./ มล. สามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีในกลุ่ม Staphylococci ได้ดีกว่า *P. acnes* และออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าเจลแต้มสิวผสมชีวสารและเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน ดังแสดงในตารางที่ 1 และสามารถคำนวณเป็นร้อยละของการยับยั้งเชื้อ (% inhibition) ได้ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งสามารถบอกได้ว่าเจลแต้มสิวผสมชีวสารมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีได้ใกล้เคียงกับเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ เจลแต้มสิวผสมชีวสาร และเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน

แบคทีเรียดัชนี	จำนวนโคโลนี (x10 ³) CFU/ ml (mean ± SD)									
	Control	ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์			เจลแต้มสิวผสมชีวสาร			เจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน		
		ความเข้มข้น 1:2 ตั้งต้น	1:4		ความเข้มข้น 1:2 ตั้งต้น	1:4		ความเข้มข้น 1:2 ตั้งต้น	1:4	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1576	0	224	960	496	584	648	312	440	920
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2608	0	0	0	456	640	872	224	760	864
<i>Propionibacterium acnes</i>	3168	120	160	168	160	360	480	168	216	512

หมายเหตุ control คือ จำนวนแบคทีเรียตั้งต้นที่ไม่ได้ผสมสารทดสอบ (3×10^7 CFU/ ml)

ตารางที่ 2 ร้อยละการต้านแบคทีเรียดัชนี (% inhibition) ของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ เจลแต้มสิวผสมชีวสาร และเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน

แบคทีเรียดัชนี	% inhibition*								
	ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์			เจลแต้มสิวผสมชีวสาร			เจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน		
	ความเข้มข้น			ความเข้มข้น			ความเข้มข้น		
	1:2	1:4	1:8	1:2	1:4	1:8	1:2	1:4	1:8
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	86	40	69	63	59	81	70	42
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	100	100	90	76	67	92	71	67
<i>Propionibacterium acnes</i>	96	95	95	95	89	85	95	93	84

จากการวิเคราะห์ทางค่าสถิติด้วยวิธี One-Way Anova พบว่า ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวทั้ง 3 ชนิด (*S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes*) โดยเจลแต้มสิวผสมชีวสาร และเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน ให้ค่าร้อยละในการต้านแบคทีเรียไม่ต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95 % ($p < 0.05$)

$$* \% \text{ inhibition} = 100 \times \left[\frac{\text{ปริมาณเชื้อตั้งต้น} - \text{ปริมาณเชื้อหลังจากผ่านการทดสอบด้วยสาร}}{\text{ปริมาณเชื้อตั้งต้น}} \right]$$

การทดสอบผลข้างเคียงของเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ ด้วยวิธี Patch test แบบ Open patch test

เจลแต้มสิวผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่มีปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 0.087 มก./ มล. ไม่แสดงผลข้างเคียงในการก่อผื่นแพ้ในอาสาสมัครจำนวน 15 ราย เมื่อทดสอบด้วยวิธี open patch-test

การอภิปรายผล

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยชีวสารกึ่งบริสุทธิ์และเจลแต้มสิวผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์

ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่มีปริมาณโปรตีนตั้งต้นเท่ากับ 2.3 มก./ มล. มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน และเจลแต้มสิวผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ ความเข้มข้น 0.087 มก./ มล. ตามลำดับ โดยยังคงมีฤทธิ์ในการต้าน *S. epidermidis* ดีที่สุด แต่เมื่อมีการเจือจางลงมาถึง titer 1:4 พบว่าตัวอย่างสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด ให้ค่าร้อยละในการต้านแบคทีเรียได้ไม่ต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95 % ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าเจลแต้มสิวผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ใกล้เคียงกับเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน่าจะเป็นไปได้หากมีการศึกษาให้มากขึ้นในแง่ของความคงตัวของฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ผสมในเจลแต้มสิวที่เตรียมขึ้น ดังที่ได้มีการพัฒนาใช้เจลแต้มสิวที่ผสมสารแบคทีริโอซิน Jensenin P จาก *Propionibacterium jensenii* B1264 ไปเป็นยารักษาสิว [12] อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการปรับปรุงให้เชื่อมีการผลิตสารสำคัญออกมาให้ได้ปริมาณมากเพียงพอในการนำไปเป็นส่วนผสมของเจลแต้มสิวเพื่อให้ได้สูตรเจลแต้มสิวที่มีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด

การทดสอบผลข้างเคียงของเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ด้วยวิธี Open Patch Test

เจลแต้มสิวผสมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ไม่แสดงผลข้างเคียงในลักษณะของการก่อผื่นแพ้ในอาสาสมัครจำนวน 15 ราย เมื่อทดสอบด้วยวิธี open patch test อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าวิธีดังกล่าว เหมาะกับการทดสอบเครื่องสำอางที่เป็นสารเคมีที่ก่ออันตรายต่อผิวและมักใช้กับสารที่มีประวัติให้ความระคายเคืองหรือเกิดการแพ้ได้บ่อย เช่น ผงซักฟอก สบู่ น้ำยาคัดผมสารที่ทำให้เกิดการแพ้ขึ้นจะแสดงปฏิกิริยาภายใน 48 ถึง 72 ชั่วโมง จึงควรมีการทดสอบการแพ้ของผิวหนังแบบ prick- puncture test ร่วมด้วย โดยเป็นการทดสอบโดยหยดสารที่จะทดสอบแล้วมีการสะกิดผิวหนังให้เกิดแผลเพื่อดูการแพ้จึงน่าจะเหมาะกับการนำไปทดสอบการแพ้ของเจลแต้มสิวเนื่องจากการนำไปใช้จริงๆ นั้นสิวลอาจทำให้มีการอักเสบและเกิดเป็นแผลได้ [10-11]

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนตั้งต้นเท่ากับ 2.3 มก./ มล. ที่เตรียมได้จากการตกตะกอนโปรตีนของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. laterosporus* ในวันที่ 4 ด้วย 80% แอมโมเนียมซัลเฟตมีฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านแบคทีเรียได้กับ *S. aureus* และ *S. epidermidis* (Titer 1:16) ดีกว่า *P. acnes* (Titer 1:8) และฤทธิ์ปฏิชีวนะดังกล่าวจะลดลงเมื่อนำไปผสมในรูปของเจลแต้มสิวลอาจเนื่องมาจากปริมาณโปรตีนของชีวสารที่ถูกเจือจางลดลงเหลือเพียง 0.087 มก./ มล. ซึ่งระดับความเข้มข้นดังกล่าวแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ถูกต้านการเจริญได้ดีกว่า *P. acnes* โดย *S. epidermidis* (Titer 1:4) ถูกต้านการเจริญได้ดีกว่า *S. aureus* (Titer 1:2) เจลแต้มสิวดังกล่าวแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ค่อนข้างดีเทียบเท่ากับเจลแต้มสิวทางการค้าที่มีส่วนผสมของยาคลินดามัยซิน และไม่ส่งผลก่อให้เกิดอาการแพ้ใดๆ บริเวณผิวหนังได้ทั้งแขนของมนุษย์ จึงเป็นที่น่าสนใจหากจะนำชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ดังกล่าวมาเพิ่มความเข้มข้นก่อนใช้เป็นส่วนผสมของเจลแต้มสิวเพื่อพัฒนาให้ได้สูตรเจลแต้มสิวที่มีประสิทธิภาพต่อไป แต่ควรคำนึงถึงผลข้างเคียงต่อผู้ใช้งานจึงควรเพิ่มการทดสอบแบบ prick puncture test [11] ในกลุ่มอาสาสมัครร่วมด้วย เพื่อยืนยันผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นในกรณีที่ผิวหนังเป็นแผลเลียนแบบสภาวะการเกิดสิวอักเสบ

คำขอบคุณ

งานวิจัยได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช และ สำนักงานคณะกรรมการวิจัย (RSA5080008) และทุนสนับสนุนบางส่วนจากโครงการพัฒนานวัตกรรมผลิตภัณฑ์ร่วมกับสถาบันการศึกษา (GSB Startup University Model) ภายใต้โครงการชื่อ “TriOCIN” ขอขอบคุณสำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และวัสดุอุปกรณ์บางส่วนในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] US Patent Application 20090143295. (2009). **Peptide-Based Antiacne Reagents** (Online). Retrieved 1 December 2009, from <http://www.patentstorm.us/applications/20090143295.html>.
- [2] Ubonsak, V. (2009). **Development of Cosmetic Gels for Acne from the Extract of *Excoecaria cochinchinensis* Lour** (Online). Retrived 18 January 2013, from, http://eoffice.pharmacy.cmu.ac.th/mis/student/student_detail.asp?id=4630016.
- [3] Swanson, I.K. (2003). “Antibiotic Resistance of *Propionibacterium acnes* in Acnes Vulgaris”, **Dermatology Nursing**. 5. 359–361.
- [4] Sukatta, U., Rugthaworn, P., Pitpiangchan, P. and Dilokkunanant, U. (2008). “Development of Anti-Acne Gel from Mangosteen Crude Extract”, **Kasetsart Journal (Natural Science)**. 42, 163-168.
- [5] Athikomkulchai, S., Wathanachaiyingcharoen, R., Tunvichien, S., Vayumhasuwan, P., Karnsomkiet, P., Sae-Jong, P. and Ruangrunsi, N. (2008). “The Development of Aanti-Acne Products from Eucalyptus Globulus and Psidium Guajava Oil”, **Journal of Health Research**. 22(3), 109-113.
- [6] Lertcanawanichakul, M., Choopan, A., Nakbud, K. and Dawveerakul, K. (2009). **Study on *Brevibacillus laterosporus*. Strain SA14 for Associated Anti-Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*** (Online). Retrieved 18 January 2016, from: http://www.scisoc.or.th/stt/34/paper/STT34_B2_B0001.pdf.
- [7] Volesky, B., Luong J.H.T. and Aunstrup, K. (1984). “Microbial Enzymes: Production, Purification, and Isolation”, **Critical Reviews in Biotechnology**. 2(2), 119-146.
- [8] Bradford, M.M. (1976). “A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding”, **Analytical Biochemistry**. 72, 248-254.
- [9] Prasantn. M. (2011). “Antimicrobial Efficacy of Different Toothpastes and Mouth Rinses: An *In Vitro* Study”, **Dental Research Journal**. 8(2), 85-94.
- [10] Siriraj Piyamaharajkarun Hospital. (2009). **Allergic Contact Dermatitis Tested by Patch Test** (Online). Retrieved 22 January 2015, from: <http://www.biopluschem.com/index.php=show&ac=article&Id=17805>.
- [11] Triyasut, V., Itharat, A., Chakkavittumrong, P. and Kanokkangsadai, P. (2016). “Irritant Reaction on Skin of Long Pepper Extract in Healthy Volunteers (Clinical Trial Phase I)”, **Thammasat Medical Journal**. 16(4), 608-615.
- [12] US Patent 5981473. (1999). **Composition and Method for Treating Acne** (Online). Retrieved 1 December 2009, from <http://www.patentstorm.us/patents/5981473/fulltext.html>.