โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก

ชื่อนิสิต นายธนภัทร จรูญเกียรติคุณ **เลขประจำตัว** 5832322523

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงงาน	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก
โดย	นายธนภัทร จรูญเกียรติคุณ รหัสนิสิต 583 23225 23
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา
ปีการศึกษา	2561

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2312499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีวานันท์ เดชอุปการ ศิริสมบูรณ์)

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก

Synergistic antimicrobial activity of plant extracts and antibiotics against Gram positive bacteria

นิสิตในโครงการ

นาย ธนภัทร จรูญเกียรติคุณ

รหัสประจำตัว 583 23225 23

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมสร้างประสบการณ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ : การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก

จัดทำโดย : นายธนภัทร จรูญเกียรติคุณ รหัสประจำตัว 583 23225 23

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จัดเป็นการรักษาทางเลือกที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะ โดยในการศึกษานี้ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 9 ชนิด รวมถึงการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน, กานามัยซิน, แอมพิซิลลิน และซิโพรฟลอกซาซิน ในการยับยั้งการเจริญต่อแบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Listeria monocytogenes* MSCU0253 และ *Staphylococcus aureus* MSCU0353 โดยขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* MSCU0253 มากที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ (MIC) อยู่ที่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้อยู่ที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อได้อยู่ที่ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์พบว่าสารสกัดจากขัวยิ้ง และสีเสียดเทศด้วยอะซีโตนมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินและกานามัยซินในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* MSCU0253 ได้มากที่สุดโดยมีค่า FICI อยู่ที่ 0.38 และสารสกัดจากซังตุ๊กด้วยเมทานอลมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาสเตรปโทมัยซินในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 ได้มากที่สุด โดยมีค่า FICI อยู่ที่ 0.19 จากข้อมูลที่ได้นี้ทำให้สามารถนำไปใช้เป็นพื้นฐานของการรักษาการติดเชื้อที่ยาปฏิชีวนะได้ในอนาคต

Project title : Synergistic antimicrobial activity of plant extracts and antibiotics against Gram positive bacteria

Investigator : Mr. Thanapat Jarunkeaittikun ID: 583 23225 23

Advisor : Assist. Prof. Dr. Supat Chareonpornwattana

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

The synergism of antimicrobial activity between plant extracts and antibiotics is an alternative treatment to use for the multidrug-resistant pathogen. In the present study, we determined the antimicrobial activity of nine medicinal plant extracts and evaluate of the synergistic effect of medicinal plant extracts with streptomycin, kanamycin, ampicillin and ciprofloxacin against two Gram positive bacteria i.e. *Listeria monocytogenes* MSCU0253 and *Staphylococcus aureus* MSCU0353. The acetonic extract of turmeric showed highest antimicrobial activity against *L. monocytogenes* MSCU0253. MIC and MBC obtained from acetonic extract of turmeric concentration were 6.25 and 12.5 mg/ ml, respectively. The methanolic extract of turmeric showed the highest antimicrobial activity against *S. aureus* MSCU0353. Both MIC and MBC were 0.78 mg/ml for methanolic extract of turmeric. The study of synergistic effect between plant extracts and antibiotics showed that the acetonic extract of Sha ren (*Amomum villosum*) and gambir (*Uncaria gambir*) had highest synergistic activity with streptomycin against *L. monocytogenes* MSCU0253. FICI of the acetonic extract of Sha ren and gambir with streptomycin was 0.38 and the methanolic extract of Cang zhu (*Atractylodes lancea*) had highest synergistic activity with streptomycin to against *S. aureus* MSCU0353. FICI of methanolic extract of Cang zhu with streptomycin was 0.19. These results may provide the basis for the development of a new therapy against multidrug-resistant pathogen in the future.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกไม่อาจสำเร็จลุล่วงลงได้หากขาดความช่วยเหลือจากบุคคลเหล่านี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่คอยให้คำปรึกษา แนะนำแนวทาง เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการศึกษาวิจัย ตลอดจนให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องหรือปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษาวิจัยจนออกมาเป็นโครงการที่เสร็จสมบูรณ์เล่มนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกคนที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ของภาควิชาสำหรับโครงการวิจัยครั้งนี้ ทำให้โครงการวิจัยครั้งนี้ดำเนินการไปได้อย่างราบรื่น

ขอขอบคุณ พี่ ๆ และ เพื่อน ๆ ทุกคนในภาควิชาที่คอยให้คำปรึกษา แนะนำ ให้กำลังใจ และช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ทำให้โครงการวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และ พี่สาว ที่คอยสนับสนุนการศึกษา ช่วยรับฟังปัญหา ให้คำปรึกษา รวมถึงเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ธนภัทร จรูญเกียรติคุณ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ..... ก
Abstract..... ข
กิตติกรรมประกาศ..... ค
สารบัญ..... ง
สารบัญตาราง..... ฉ
สารบัญรูป..... ซ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ยาปฏิชีวนะ..... 1
1.2 การดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์..... 3
1.3 พืชสมุนไพร..... 7
1.4 สารสกัดจากพืช..... 8
1.5 การรักษาแบบผสมผสาน..... 9
บทที่ 2 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง..... 13
2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ..... 13
2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง..... 13
2.3 ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง..... 13
2.4 อุปกรณ์..... 14
2.5 เคมีภัณฑ์..... 16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง..... 18
บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง..... 48
เอกสารอ้างอ้าง..... 51
ภาคผนวก..... 57
ภาคผนวก ก..... 58
ภาคผนวก ข..... 59
ภาคผนวก ค..... 60

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์..... 2

2 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้เมทานอลและอะซีโตน
ในการสกัด..... 23

3 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ
L. monocytogenes MSCU0253..... 25

4 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ
S. aureus MSCU0353..... 26

5 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ
L. monocytogenes MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353..... 28

6 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ
L. monocytogenes MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353..... 30

7 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า
L. monocytogenes MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353..... 32

8 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง
การเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253..... 36

9 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง
การเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 37

10 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง
การเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253..... 60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

11 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง
การเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 62

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

1 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามกลไกการออกฤทธิ์ต่อเซลล์จุลินทรีย์..... 3

2 การค้นพบยาปฏิชีวนะและการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์..... 4

3 กลไกการลดการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะโดยการเปลี่ยนแปลงของ
เยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก..... 5

4 กลไกการลำเลียงยาปฏิชีวนะออกนอกเซลล์โดยกระบวนการเอฟฟลักซ์ปั๊ม..... 5

5 กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะโดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเป้าหมาย
ของยาปฏิชีวนะ..... 6

6 กลไกการยับยั้งยาปฏิชีวนะโดยการสร้างเอนไซม์มาทำลายยาปฏิชีวนะ..... 7

7 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้เมทานอลในการสกัด..... 22

8 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้อะซีโตนในการสกัด..... 22

9 ลักษณะโคโลนีของ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
50% TSA และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า..... 24

10 ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* MSCU0353 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% TSA
และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า..... 24

11 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *L. monocytogenes*
MSCU0253 ด้วยวิธี agar disc diffusion 26

12 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *S. aureus* MSCU0353
ด้วยวิธี agar disc diffusion 27

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

13 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้ง
การเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนไมโครเพลต..... 28

14 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้ง
การเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 บนไมโครเพลต..... 29

15 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้ง
การเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนไมโครเพลต..... 31

16 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้ง
การเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 บนไมโครเพลต..... 31

17 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า
L. monocytogenes MSCU0253 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA..... 33

18 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า
S. aureus MSCU0353 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA..... 34

19 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตน
กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ
L. monocytogenes MSCU0253..... 38

20 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากซัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตน
กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ
L. monocytogenes MSCU0253..... 39

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

21 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253..... 40

22 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอล กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253..... 41

23 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากชังตุ๊กที่สกัดด้วยเมทานอล กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 42

24 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตน กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 43

25 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอล กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 44

26 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตน กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 45

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

27 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 46

28 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอล กับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353..... 47

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) หมายถึง ยาที่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ โดยยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่เป็นสารที่จุลชีพชนิดหนึ่งสร้างขึ้นและมีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือทำลายจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง (Korzybski และคณะ, 2013) ซึ่งในปัจจุบันยาปฏิชีวนะจัดเป็นยาที่สำคัญที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายส่งผลให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่ถูกต้องและเกินความจำเป็นซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลทำให้เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะเร็วขึ้น ทำให้ยาปฏิชีวนะชนิดเดิมที่ใช้รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถที่จะยับยั้งการเจริญหรือทำลายแบคทีเรียชนิดเดิมได้ จึงส่งผลกระทบต่อการสาธารณสุขในหลาย ๆ ประเทศทั่วโลก (Paterson, 2006) โดยการจัดจำแนกประเภทของยาปฏิชีวนะสามารถที่จะแบ่งได้หลากหลายแบบโดยขึ้นกับเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดจำแนกเช่น

1.1.1 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามสูตรโครงสร้างทางเคมี (van Hoek และคณะ, 2011)

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มบีตา-แลคแทม เช่น กลุ่มเพนิซิลลิน, กลุ่มเซฟาโลสปอริน
- ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราไซคลิน
- ยาปฏิชีวนะกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์
- ยาปฏิชีวนะกลุ่มควิโนโลน
- ยาปฏิชีวนะกลุ่มซัลโฟนาไมด์

1.1.2 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามขอบเขตการออกฤทธิ์ (Schwalbe และคณะ, 2007)

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มสเปกตรัมกว้าง คือยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบได้หลากหลายชนิดเช่น เตตราไซคลิน, คลอแรมเฟนิคอล

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มสเปกตรัมแคบ คือยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียน้อยชนิด เช่น เพนิซิลลินส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก, อะมิโนไกลโคไซด์ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ เป็นต้น

1.1.3 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ (Walsh, 2003) (ตารางที่ 1)

- ยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (bacteriostatic)
- ยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการฆ่าจุลินทรีย์ (bactericidal)

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ (ที่มา: Classification of antimicrobials เข้าถึงข้อมูลวันที่ 13 เมษายน พ.ศ. 2562)

Bactericidal	Bacteriostatic
Penicillins	Tetracyclines
Cephalosporins	Chloramphenicol
Aminoglycosides	Macrolides
Trimethoprim/sulfa combination	Lincosamides
Bacitracin	Sulfa drugs
Metronidazole	Trimethoprim
Polymyxins	Erythromycin
Novobyocin	
Fluoroquinolones	

1.1.4 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามกลไกการออกฤทธิ์ต่อเซลล์จุลินทรีย์ (รูปที่ 1)

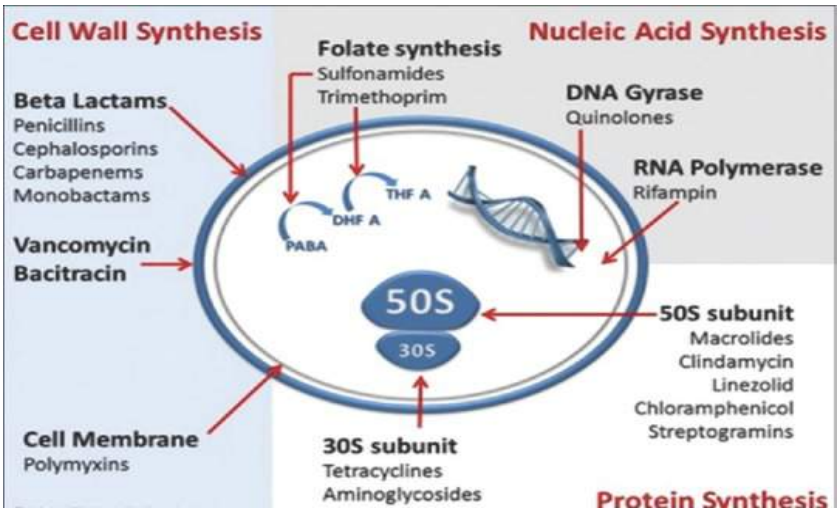
- ยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ โดยการออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างเพปทิโดไกลแคนของผนังเซลล์ของแบคทีเรียเช่น ยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนิซิลลิน, กลุ่มเซฟาโลสปอริน, แวนโคมัยซิน เป็นต้น

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน โดยการทำให้ส่วนประกอบของเมมเบรนผิดปกติ, ทำให้การดูดซึมของไอออนผิดปกติหรือส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผิวของเมมเบรน เช่น พอลิมิกซิน, แกรมมิซิดิน เป็นต้น

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างกรดนิวคลีอิก โดยการขัดขวางการทำงานของดีเอ็นเอหรือการขัดขวางเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกเช่น ไรฟามัยซิน, ควิโนโลน เป็นต้น

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น เตตราไซคลิน, อะมิโนไกลโคไซด์, คลอแรมเฟนิคอล เป็นต้น

- ยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ออกฤทธิ์รบกวนเมแทบอไลต์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เช่น ซัลโฟนาไมด์, ไทรเมโทพริม เป็นต้น



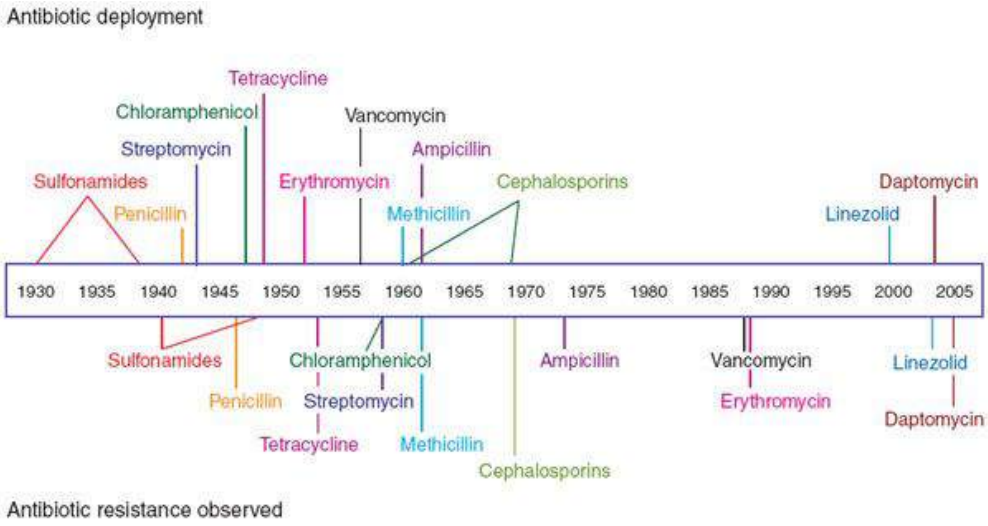
รูปที่ 1 การจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามกลไกการออกฤทธิ์ต่อเซลล์จุลินทรีย์ (Kapoor และคณะ, 2017)

นอกจากการดื้อยาปฏิชีวนะแล้วการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่ถูกต้องและเกินความจำเป็นอาจส่งผลกระทบหรือเกิดผลข้างเคียงต่อร่างกายผู้ที่ใช้ยาปฏิชีวนะได้ด้วย เช่น ทำให้เกิดผื่น ปากบวม ตาบวม แน่นหน้าอก คลื่นไส้ อาเจียน อาการท้องร่วง เป็นต้น (Cunha, 2001)

1.2 การดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์

การดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ก่อโรคจัดเป็นปัญหาที่สำคัญของการสาธารณสุขที่หลาย ๆ ประเทศเป็นกังวล และให้ความสำคัญในการที่จะเร่งแก้ไขปัญหาเป็นอย่างมากเนื่องจากการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตของมนุษย์ และสัตว์ทั่วโลก โดยปัจจุบันมีการพบว่าประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะลดลงอย่างมากเนื่องจากจุลินทรีย์มีการปรับตัวให้ดื้อต่อยาส่งผลให้ยาปฏิชีวนะที่เคยใช้ได้ผลในอดีตกลับกลายเป็นใช้ไม่ได้ผลแล้วในปัจจุบัน โดยในช่วง 30 ปีที่ผ่านมาแนวโน้มของการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์มีสูงเพิ่มมากขึ้น (Richard และ Yitzhak, 2014) ซึ่งแตกต่างกับจำนวนยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่มีปริมาณลดลงอย่างมาก หรือแทบจะไม่มีเลย (รูปที่ 2) เนื่องจากอุตสาหกรรมยาได้เห็นว่าการวิจัย และพัฒนายาในกลุ่มนี้เป็นการลงทุนที่ไม่คุ้มค่า เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาที่นานในการศึกษา มีค่าใช้จ่ายที่สูง อีกทั้งจุลินทรีย์ยังสามารถที่จะดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้อย่างรวดเร็วส่งผลทำให้ยาในกลุ่มนี้สามารถขายได้ในระยะสั้น จึงทำให้อุตสาหกรรมยาเปลี่ยนไปลงทุนในกลุ่มยาที่เกี่ยวข้องกับโรคเรื้อรังมากกว่า โดยองค์การอนามัยโลกได้ระบุว่าการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะที่

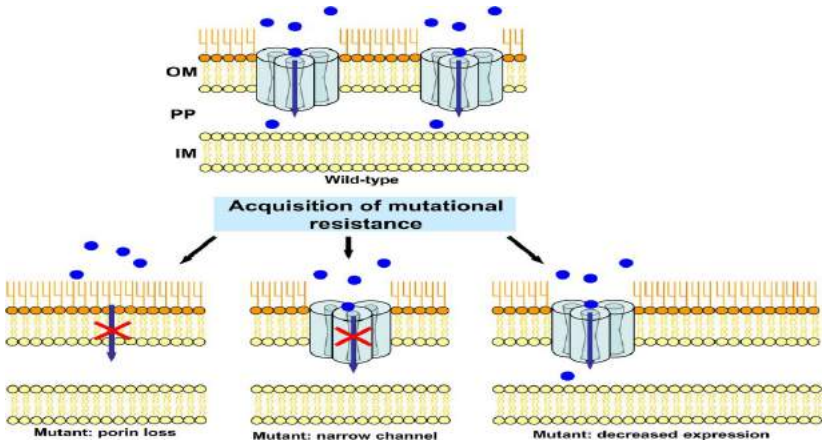
มีอยู่ลดลง และไม่มียาปฏิชีวนะชนิดใหม่เข้ามาทดแทน ทำให้ทุกประเทศทั่วโลกกำลังเข้าสู่ “ยุคหลังยาปฏิชีวนะ (post antibiotic era)” ทำให้การเจ็บป่วยจากการติดเชื้อจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อยอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ โดยผลกระทบจากการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์พบว่าทั่วโลกมีผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะถึงประมาณปีละ 700,000 คน และหากไม่เร่งแก้ไขปัญหาภายในปี 2593 คาดว่าจะมีผู้ที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะสูงถึง 10 ล้านคนซึ่งคิดเป็นผลกระทบทางเศรษฐกิจสูงถึง 3.5 พันล้านล้านบาท (นิธิมา และคณะ, 2558)



รูปที่ 2 การค้นพบยาปฏิชีวนะและการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ (Clatworthy และคณะ, 2007)

ซึ่งกลไกในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์นั้นมีหลากหลายกลไกเช่น

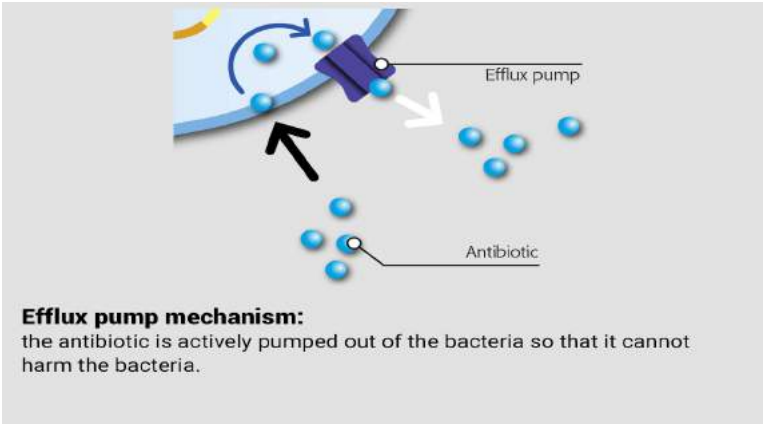
1.2.1 กลไกการลดการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะโดยการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก โดยแบคทีเรียมีการลดจำนวนหรือมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของพอริน (porin) (รูปที่ 3) ซึ่งพอรินเป็นช่องทางการผ่านเข้าออกของสารบริเวณของชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย ทำให้ยาปฏิชีวนะบางชนิดที่อาศัยพอรินในการเข้าทำลายเซลล์แบคทีเรียเช่น บีตา-แลคแทม ควิโนโลน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่ชอบน้ำ สามารถเข้าไปทำลายเซลล์ของแบคทีเรียได้น้อยลง (Kapoor และคณะ, 2017)



รูปที่ 3 กลไกการลดการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะโดยการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก (Fernández และ Hancock, 2012)

1.2.2 กลไกการลำเลียงยาปฏิชีวนะออกนอกเซลล์โดยกระบวนการเอฟฟลักซ์ปั๊ม (efflux pump)

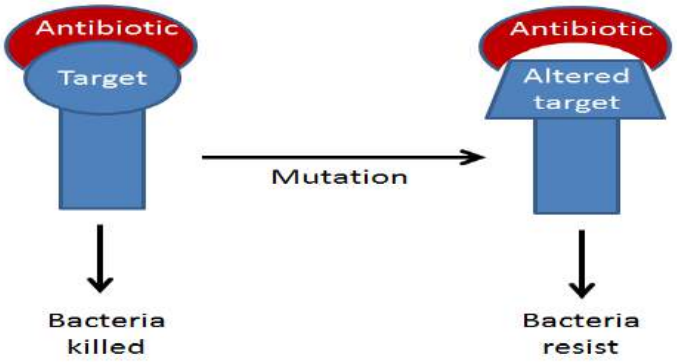
เอฟฟลักซ์ปั๊ม หรือ เอฟฟลักซ์โปรตีน (efflux protein) เป็นโปรตีนที่แทรกอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่ขับยาปฏิชีวนะหรือสารพิษบางชนิดออกนอกเซลล์ (รูปที่ 4) ทำให้ปริมาณความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่อยู่ในเซลล์ลดลง และทำให้ยาไม่สามารถไปถึงเป้าหมายได้ โดยแบ่งเป็น 2 ประเภทตามแหล่งของพลังงานในการทำงานได้แก่ เอฟฟลักซ์ปั๊มที่ใช้พลังงานจากสลาย ATP ในการขับยาออกจากเซลล์และเอฟฟลักซ์ปั๊มที่ใช้แรงขับจากปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี (Munita และ Arias, 2016)



รูปที่ 4 กลไกการลำเลียงยาปฏิชีวนะออกนอกเซลล์โดยกระบวนการเอฟฟลักซ์ปั๊ม (ที่มา : https://www.antimicrobial-resistance.biomerieux.com)

1.2.3 กลไกการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเป้าหมายของยาปฏิชีวนะ

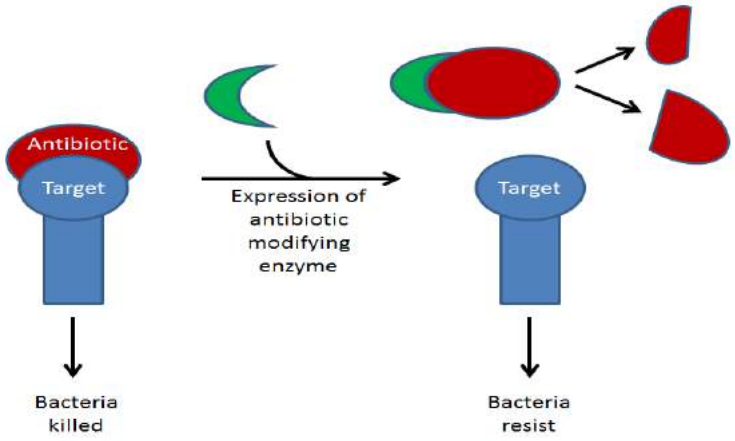
การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเป้าหมายของยาปฏิชีวนะ (รูปที่ 5) สามารถเกิดขึ้นเองจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของโครโมโซมของแบคทีเรียทำให้ยาปฏิชีวนะไม่สามารถที่จะจับโมเลกุลเป้าหมายเพื่อทำลายเซลล์ของแบคทีเรียได้ (Blair และคณะ, 2015)



รูปที่ 5 กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะโดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเป้าหมายของยาปฏิชีวนะ (ที่มา : https://www2.le.ac.uk/projects/vgec/highereducation/topics/microbial-genetics-1/antibiotic-resistance-1)

1.2.4 กลไกการยับยั้งยาปฏิชีวนะโดยการสร้างเอนไซม์มาทำลายยาปฏิชีวนะ

กลไกการยับยั้งยาปฏิชีวนะโดยการสร้างเอนไซม์มาทำลายยาปฏิชีวนะ (รูปที่6) เป็นกลไกที่พบได้มากที่สุด เช่น การที่แบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส (beta-lactamase) ออกมาย่อยหรือทำลายยาปฏิชีวนะในกลุ่มบีตา-แลคแทม ทำให้ยาปฏิชีวนะไม่สามารถที่จะทำลายหรือยับยั้งแบคทีเรียได้เนื่องจากโครงสร้างของยาปฏิชีวนะเปลี่ยนไป (Davies และคณะ, 1994)



รูปที่ 6 กลไกการยับยั้งยาปฏิชีวนะโดยการสร้างเอนไซม์มาทำลายยาปฏิชีวนะ (ที่มา : https://www2.le.ac.uk/projects/vgec/highereducation/topics/microbial-genetics-1/antibiotic-resistance-1)

1.3 พืชสมุนไพร

พืชสมุนไพร หมายถึง พืชที่ใช้เป็นยารักษาโรค, อาการเจ็บป่วยหรือเสริมสุขภาพรวมถึงการมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด (Hayashi และคณะ, 2014) โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนของน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นแหล่งของสารเคมีต่างๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Sarikurkcu และคณะ, 2013) ซึ่งสมุนไพรแต่ละชนิดนั้นจะมีการใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืชแตกต่างกันไปตั้งแต่ราก ลำต้น ใบ ดอก และผลซึ่งจะขึ้นกับชนิดของพืชนั้น ๆ โดยพืชสมุนไพรสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท คือ

1.3.1 พืชสมุนไพรประเภทต้นไม้ เช่น ต้นพิกุล ต้นขี้เหล็ก ต้นมะตูม

1.3.2 พืชสมุนไพรประเภทเถาหรือเครือ เช่น บอระเพ็ด เถาคันแดง

1.3.3 พืชสมุนไพรประเภทหัวหรือเหง้า เช่น ข่า ขิง กระชาย

1.3.4 พืชสมุนไพรประเภทผัก เช่น ผักบุ้ง ผักชี ผักกาด

1.3.5 พืชสมุนไพรประเภทหญ้า เช่น หญ้าแพรก หญ้าคา ตะไคร้

ซึ่งสรรพคุณของสมุนไพรนั้นมีมากมายในด้านการรักษาโรคหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วย เช่น

ผลของมะขามป้อม มีสรรพคุณช่วยบำรุงผิว ช่วยขับปัสสาวะ แก้กระหายน้ำ ลดเสมหะ ช่วยขับลมแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ เสริมสร้างภูมิต้านทานให้แก่ร่างกาย รักษาแผลไฟไหม้

เหง้าของขมิ้นชัน มีฤทธิ์ในการเป็นยาฆ่าแบคทีเรีย รา ช่วยลดอาการอักเสบ ช่วยป้องกันและรักษาแผลในกระเพาะอาหาร ขับลม บรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ

กระเทียม มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลในร่างกาย ป้องกันอาการไอ ลดน้ำมูก ป้องกันไข้หวัด ช่วยขับเสมหะ แก้อาการวิงเวียนศีรษะ ช่วยขับเหงื่อ

ขิง มีสรรพคุณช่วยขับเหงื่อ ไล่ความเย็น และยังแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ช่วยให้เจริญอาหาร รักษาไข้หวัด ลดไข้ ขับลมในกระเพาะอาหาร รักษาแผล

ซึ่งจะเห็นได้ว่าพืชสมุนไพรสามารถใช้ในการรักษาโรคหรืออาการเจ็บป่วยได้มากแต่การใช้สมุนไพรอาจจะมีโทษถึงตัวผู้ใช้หากใช้อย่างไม่ถูกต้อง ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อตัวผู้ใช้ เช่น การใช้ขมิ้นชันมีผลข้างเคียงคืออาการแพ้ เช่น คลื่นไส้ ท้องเสีย ปวดหัว นอนไม่หลับ หรือการใช้มะขามป้อมอาจทำให้เกิดภาวะเลือดออกผิดปกติโดยสำหรับผู้ป่วยที่มีแผนในการผ่าตัดควรงดกินมะขามป้อมอย่างน้อย 2 สัปดาห์ เป็นต้น (ที่มา : https://medthai.com/herb)

1.4 สารสกัดจากพืช

สารสกัดจากพืช คือสารที่สกัดหรือแปรรูปได้จากพืชโดยใช้ตัวทำละลายหรือวิธีการแยกที่เหมาะสมมาใช้ในการแยก ซึ่งสกัดจากพืชนั้นประกอบไปด้วยสารหลากหลายชนิด เช่น สารในกลุ่มพอลิฟีนอล เทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ แทนนิน เป็นต้น ซึ่งการพบสารแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ส่วนของพืชที่นำมาใช้สกัด องค์ประกอบของดินที่ปลูก อายุพืช เวลาที่เก็บพืช ลักษณะทางภูมิประเทศของบริเวณที่ปลูกพืช เป็นต้น (Viljoen และคณะ, 2005) โดยการสกัดสารสกัดจาพืชสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม การสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดโดยใช้ความร้อน เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากมายเช่น ใช้เป็นสารที่ให้กลิ่นหอม ใช้ในการทำยารักษาโรค ใช้เป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว น้ำหอมหรือเครื่องสำอาง และเป็นแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ (Hayashi และคณะ, 2014) ซึ่งได้มีหลากหลายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช เช่น

Mahesh และ Satish, 2008 ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช *Acacia nilotica, Sida cordifolia, Tinospora cordifolia, Withania somnifer* และ *Ziziphus mauritiana* ด้วยเมทานอลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์พบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์

Benkeblia, 2004 ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากหอมใหญ่หลายชนิด (*Allium cepa*) และกระเทียม (*Allium sativum*) ในการยับยั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella enteritis* และรา 3 สายพันธุ์ คือ *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* และ *Fusarium oxysporum* พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากกระเทียมและหอมใหญ่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์โดยพบว่า *Fusarium oxysporum* มีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยน้อยที่สุด และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากกระเทียมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อทดสอบมากที่สุด

นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553 ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด, ขมิ้นชัน และใบบัวบกในการยับยั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์คือ *Propionibacterium acnes* และ *S. aureus* พบว่าบริเวณยับยั้งของของสารสกัดจากมังคุดมีค่ามากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน และใบบัวบกที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบกมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยับยั้ง *P. acnes* อยู่ที่ 12.5, 25 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 6.25, 12.5 และ 200 ต่อมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าสารสกัดจากมังคุดใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 2 ชนิด

วัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์ และคณะ, 2559 ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสมุนไพรไทย 10 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ชุดเห็ดเทศ จันทน์แดง จันทน์แปดกลีบ ฝาง พริกไทยดำ ฟ้าทะลายโจร ยี่หร่า สมอไทยและอบเชยในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922 พบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากสมุนไพรไทย 5 ชนิดจาก 10 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกสายพันธุ์ และสารสกัดจากฝางมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้มากที่สุด

1.5 การรักษาแบบผสมผสาน (combination therapy)

การรักษาแบบผสมผสาน จัดเป็นการรักษาวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ มากขึ้นในปัจจุบันเนื่องจากการรักษาแบบผสมผสานนั้นส่งเสริมทำให้ผลการรักษามีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการรักษาในแบบปกติทั่วไป โดยปัจจุบันวิธีการรักษาแบบผสมผสานนิยมถูกใช้ในการรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ง่าย (Rasoanaivo และคณะ, 2011) ซึ่งจะส่งผลทำให้เชื้อเกิดการดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ช้าลง เช่น ในกรณีผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV จะได้รับยาต้านไวรัส 3 ตัว และอย่างน้อย 2 กลุ่ม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา และลดโอกาสของการดื้อยา เนื่องจากเชื้อ HIV นั้นมีความสามารถ

ในการดื้อยาสูง ซึ่งการรักษาแบบผสมผสานโดยการใช้ยาหรือสารหลากหลายชนิดอาจทำให้เกิดการทำงานร่วมกันระหว่างสารซึ่งอาจเกิดผลเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ทำให้สามารถรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ดียิ่งขึ้น (Chukwujekwu และ Van staden, 2016) ซึ่งการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นั้นเป็นทางเลือกใหม่ที่ดีในการรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Stefanović และ Comic, 2012) เพื่อทำให้ยาปฏิชีวนะนั้นยังคงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อไว้ได้เหมือนเดิมอีกทั้งยังทำให้ยาปฏิชีวนะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อมากยิ่งขึ้นกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว (Junio และคณะ., 2011; Wang และคณะ, 2014) โดยที่ไม่ต้องหายาปฏิชีวนะชนิดใหม่เพื่อนำมาทดแทนยาปฏิชีวนะชนิดเดิมที่เชื้อเกิดการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ อีกทั้งยังสามารถที่จะช่วยลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะ และผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย (Fadli และคณะ, 2012) ซึ่งได้มีหลากหลายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น

Elhidar และคณะ., 2019 ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยของพืช *Senecio anteuphorbium* กับยาต้านจุลินทรีย์ซิโพรฟลอกซาซิน, ฟลูโคนาโซล และแอมโฟเทอริซิน บี ในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ และยีสต์ 5 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยของพืช *S. anteuphorbium* มีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาซิโพรฟลอกซาซิน และฟลูโคนาโซลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ แต่ไม่พบการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาแอมโฟเทอริซิน บี

Aghraz และคณะ., 2018 ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยของพืช *Cladanthus arabicus* และ *Bubonium imbricatum* กับยาปฏิชีวนะอะมอกซีซิลลิน และนีโอมัยซินในการต้านแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* 7 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยของพืช *B. imbricatum* มีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาอะมอกซีซิลลินในการต้านเชื้อทดสอบ 4 สายพันธุ์ และมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยานีโอมัยซินในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบ 2 สายพันธุ์ เสริมฤทธิ์บางส่วน 2 สายพันธุ์ส่วน น้ำมันหอมระเหยของพืช *C. arabicus* มีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาอะมอกซีซิลลินในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบ 2 สายพันธุ์ และเสริมฤทธิ์บางส่วน 1 สายพันธุ์ แต่ไม่พบการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยานีโอมัยซินในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบเลยในทุกสายพันธุ์

วิสาตรี คงเจริญสุนทร และคณะ, 2554 ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากทองพันชั่งกับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน และเตตราไซคลินในการยับยั้งแบคทีเรียที่ดื้อยา 3 สายพันธุ์ คือ *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* และ methicillin- resistant

Staphylococcus aureus (MRSA) พบว่าสารสกัดจากทองพันชั่งมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบที่ดื้อยาปฏิชีวนะได้ โดยเฉพาะการเสริมฤทธิ์ร่วมยาปฏิชีวนะเตตราไซคลินที่ให้ประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุด

วารี เนื่องจำนงค์ และ วิสาตรี คงเจริญสุนทร, 2560 ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเสริมฤทธิ์ของ Lupeol จากไคร้ร่วมกับยาเตตราไซคลินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียฉวยโอกาส 10 สายพันธุ์ พบว่าสาร Lupeol มีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาเตตราไซคลินในการยับยั้ง *P. aeruginosa* (FICI = 0.27) และพบการเสริมฤทธิ์กันบางส่วนในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 (FICI = 0.56)

โดยผู้วิจัยได้เล็งเห็นว่าการรักษาแบบผสมผสานโดยการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะนั้นอาจจะเป็นแนวทางเลือกแนวทางหนึ่งที่ช่วยรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะให้มากขึ้น ช่วยให้สามารถลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงลด ทำให้ลดอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะลงได้ อีกทั้งยังช่วยลดระยะเวลาในการรักษาลงได้ด้วยในอนาคต โดยผู้วิจัยได้เลือกศึกษาฤทธิ์สมุนไพรไทย 7 ชนิด คือ กระเทียม (*Allium sativum*) ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*) พริกไทยดำ (*Piper nigrum*) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) และสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) ซึ่งมีสรรพคุณที่ใช้ในการรักษาอาการป่วยได้หลากหลาย และสมุนไพรจีน 2 ชนิด คือ ชังตุ๊ก (*Atractylodes lancea*) และซัวยิ้ง (*Amomum villosum*) ซึ่งเป็นสมุนไพรจีนที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับการรักษาโรคในทางเดินอาหาร ในการยับยั้งการเจริญต่อแบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ คือ *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* และการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด และการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* MSCU0353 และ *L. monocytogenes* MSCU0253

บทที่ 2
อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบจากคลังจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. *Listeria monocytogenes* MSCU0253
2. *Staphylococcus aureus* MSCU0353

2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง

1. กระเทียม (*Allium sativum*)
2. ขิง (*Zingiber officinale*)
3. ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*)
4. ชังตุ๊ก (*Atractylodes lancea*)
5. ชัวยิ้ง (*Amomum villosum*)
6. โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*)
7. พริกไทยดำ (*Piper nigrum*)
8. มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*)
9. สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*)

2.3 ยาปฏิชีวนะ

1. กานามัยซิน (kanamycin) บริษัท Thai Meiji Pharmaceutical ประเทศไทย
2. ซิโพรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) บริษัท Cadila Healthcare ประเทศอินเดีย
3. สเตรปโทมัยซิน (streptomycin) บริษัท General Drugs House ประเทศไทย
4. แอมพิซิลลิน (ampicillin) บริษัท General Drugs House ประเทศไทย

2.4 อุปกรณ์

1. กรวยแก้ว (Glass funnel) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper) ขนาด 110 มิลลิเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
3. กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร บริษัท Nipro ประเทศไทย
4. กระบอกตวงขนาด 50, 100 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท Nalgene ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. ขวดดูแรนขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท Schott ประเทศเยอรมัน
6. ขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร บริษัท Kimax ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. ขวดตัวอย่างเครื่องระเหยสารแบบหมุนโดยระบบสุญญากาศ บริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น
8. ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 50, 125, 500 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. ขวดสีชา
10. เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น InnovaTM 2300 บริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น InnovaTM 4300 บริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
12. เครื่องชั่งละเอียด รุ่น AG 285 บริษัท Metler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
13. เครื่องชั่งหยาบ รุ่น PG 2002-S บริษัท Metler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
14. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ รุ่น ss-325 และ ES-315 บริษัท Tomy Digital Biology ประเทศญี่ปุ่น
15. เครื่องปั่น บริษัท Philips ประเทศเนเธอแลนด์
16. เครื่องปั่นเครื่องเหวี่ยงสารตกตะกอนขนาดเล็ก (Spin down) บริษัท Tomy Digital Biology ประเทศญี่ปุ่น
17. เครื่องผสมสาร (Vortex-Genie2) รุ่น G560E บริษัท Scientific Industries Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

18. เครื่องระเหยสารแบบหมุนโดยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) บริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น
19. เครื่องระเหยแห้งแบบปั่นเหวี่ยงโดยระบบสุญญากาศ (Centrifuge evaporator) รุ่น eppendorf concentrator 5301 บริษัท Modotech ประเทศเยอรมัน
20. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Biomate-35 บริษัท Thermo Scientific ประเทศไทย
21. จานอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Petri dish) ขนาด 90×15 มิลลิเมตร บริษัท Nest Biotechnology ประเทศจีน
22. ช้อนตักสาร
23. ตะเกียงแอลกอฮอล์
24. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (Incubator) รุ่น INE500 บริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน
25. ตู้เย็น (Refrigerator) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส บริษัท Sharp ประเทศไทย
26. ตู้ลามินาร์โฟลว (Laminar flow carbinet) CLEAN model. V4 บริษัท Lab service ประเทศไทย
27. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) บริษัท Contherm Scientific Limited ประเทศนิวซีแลนด์
28. ถุงพลาสติกหนาแบบทนร้อน
29. ถุงมือยาง บริษัท Sri Trung gloves ประเทศไทย
30. ที่วางหลอดทดลอง (Test tube rack)
31. เทปกาวกระดาษ
32. เทปใส
33. บีกเกอร์ขนาด 50 และ 250 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
34. ปากคีบ (Forceps)
35. ผ้าขาวบาง
36. แผ่นกระดาษกรองเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
37. แผ่นพาราฟิล์ม บริษัท Bemis ประเทศสหรัฐอเมริกา
38. มัลติแชลแนลปิเปตต์ (Multi-Channel Pipette) ขนาด 20 ถึง 200 ไมโครลิตร บริษัท Labnet International ประเทศสหรัฐอเมริกา

39. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) ขนาด 20, 100 และ 1000 ไมโครลิตร บริษัท Gilson ประเทศฝรั่งเศส
40. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร บริษัท BrandTech Scientific Inc. ประเทศอังกฤษ
41. ไมโครเพลต 96 หลุม (96 well plate) บริษัท Greiner bio-one ประเทศเยอรมัน
42. หลอดทดลองขนาด 16x100 และ 16x150 มิลลิเมตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
43. หลอดทดลองขนาด 16x100 และ 16x150 มิลลิเมตร บริษัท Kimax ประเทศสหรัฐอเมริกา
44. หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (Eppendorf) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บริษัท Eppendorf ประเทศเยอรมัน
45. หัวกรองสำเร็จ (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
46. ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
47. ทิปขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร บริษัท TreffLab ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
48. ทิปขนาด 200 ไมโครลิตร บริษัท Thermo Scientific ประเทศฟินแลนด์
49. แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spreader)
50. สำลี
51. อลูมิเนียมฟอยล์

2.5 เคมีภัณฑ์

1. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric) 95 % บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
2. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO) บริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
3. แบเรียมคลอไรด์ (Barium Chloride) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
4. ผงวุ้น (agar) ตรานางเงือก ประเทศไทย
5. เมทานอล (Methanol) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
6. เรซาซูริน (Resazurin) บริษัท Sigma Chemical ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. อะซีโตน (Acetone) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
9. เอทานอล (Ethanol)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำพืชแต่ละชนิดมาปอกเปลือกและล้างทำความสะอาดบริเวณผิวของพืชให้สะอาด โดยสำหรับลักษณะของพืชแต่ละชนิดที่เลือกนำมาใช้คือ กระเทียมจะใช้บริเวณส่วนหัวและเป็นกระเทียมเม็ดใหญ่ ขิงและขมิ้นชันจะบริเวณส่วนเหง้าที่มีความแก่ พริกไทยดำ ซัวยิ้งและโป๊ยกั๊กจะใช้บริเวณส่วนผลที่ผ่านการตากแห้ง ชังตุ๊กจะใช้บริเวณส่วนเหง้าที่ผ่านการตากแห้ง สีเสียดเทศจะใช้บริเวณส่วนของลำต้นที่ผ่านการตากแห้ง และมะขามป้อมจะใช้ส่วนของผลอ่อน โดยนำมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น และชั่งพืชแต่ละชนิด 50 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร และเติมอะซีโตนหรือเมทานอล 200 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารที่สกัดได้มากรองผ่านผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 ตามลำดับจะได้สารสกัดจากพืช และนำสารสกัดจากพืชไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยสำหรับสารสกัดที่มีตัวทำละลายเป็นอะซีโตนจะทำภายใต้ความดัน 400 มิลลิบาร์ และสำหรับสารสกัดที่มีตัวทำละลายเป็นเมทานอลจะทำภายใต้ความดัน 300 มิลลิบาร์ จนตัวทำละลายหมดจากนั้นเติมตัวทำละลายเดิมลงไปเล็กน้อยเพื่อชะเอาสารสกัดออก และนำสารสกัดที่ได้ใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ที่มีการชั่งน้ำหนักไว้จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกอีกครั้งโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบสุญญากาศ (centrivap) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายหมด จากนั้นละลายสารสกัดจากพืชด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) กรองด้วยหัวกรองสำเร็จ (syringe filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

3.2 การเตรียมสารแขวนลอยของจุลินทรีย์ทดสอบ

นำโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* จากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% Tryptic soy agar (50%TSA) ใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 50% Tryptic soy broth (50%TSB) 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลเซียส 18-24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตต์สารแขวนลอยแบคทีเรียที่ได้ 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 50%TSB ใหม่ 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มโดยเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสความเร็ว 200 รอบต่อนาที จนอาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mcfarland standard (10^8 CFU/mL) จึงใช้เป็นเชื้อทดสอบสำหรับวิธี agar disc diffusion และเจือจาง 100 เท่าเพื่อใช้เป็นเชื้อทดสอบสำหรับวิธี broth microdilution และวิธี checkerboard

3.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี agar disc diffusion

ใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในสารแขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบที่เลี้ยงในอาหาร 50%TSB ที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/mL มาเกลี่ยลงผิวหน้าของอาหาร 50% Tryptic soy agar (50%TSA) จากนั้นวางแผ่นกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่มีการชุบสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 20 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมผลบวก และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ 10% เป็นตัวควบคุมผลลบ (Bauer และคณะ, 1966)

3.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) โดยวิธี broth microdilution

เตรียมยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 50%TSB ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 50-0.195 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบที่มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลตหลุมละ 100 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติมอินดิเคเตอร์คือ เรซาซูริน 0.015% 30 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมงจากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูริน ซึ่งถ้ามีเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตจะเกิดการเปลี่ยนสีของเรซาซูรินจากสีม่วงกลายเป็นสีชมพู แต่ถ้าไม่มีเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต

จะไม่เกิดการเปลี่ยนสี (Elshikh และคณะ, 2016) โดยมียาปฏิชีวนะชนิดที่ทดสอบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมผลบวก และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมผลลบ

3.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) โดยวิธี Broth microdilution

เตรียมสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 50%TSB ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 100-0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบที่มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลตหลุมละ 100 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติมอินดิเคเตอร์ คือ เรซาซูริน 0.015% 30 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูริน (Elshikh และคณะ, 2016) โดยมียาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมผลบวก และ ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ 10% เป็นตัวควบคุมผลลบ

3.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum bactericidal concentration)

นำผลการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) มาหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (MBC) โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อจุ่มลงในหลุมที่ไม่พบการเปลี่ยนสีของเรซาซูรินหลังจากการบ่มมาเพาะเชื้อโดยการขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตและบันทึกผลค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่ไม่พบการเจริญของเชื้อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

3.7 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทดสอบด้วยวิธี checkerboard

เจือจางสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/4 เท่าของ MIC และปิเปตต์สารสกัดจากพืชที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต เจือจาง

ยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลิน และซิโพรฟลอกซาซิน ให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/16 เท่าของ MIC และปิเปตต์ยาปฏิชีวนะที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต จากนั้นเติมเชื้อทดสอบความเข้มข้น 10^6 CFU/mL 50 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติม เรซาซูริน 0.015% 15 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูริน โดยอ่านความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะ และสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ และประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการเสริมฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะโดยการคำนวณค่า fraction inhibitory concentration (FICI) ซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างสาร 2 ชนิด (Lorian, 2005) โดยคำนวณจากสูตร

$$FICI = FIC\ (A) + FIC\ (B)$$

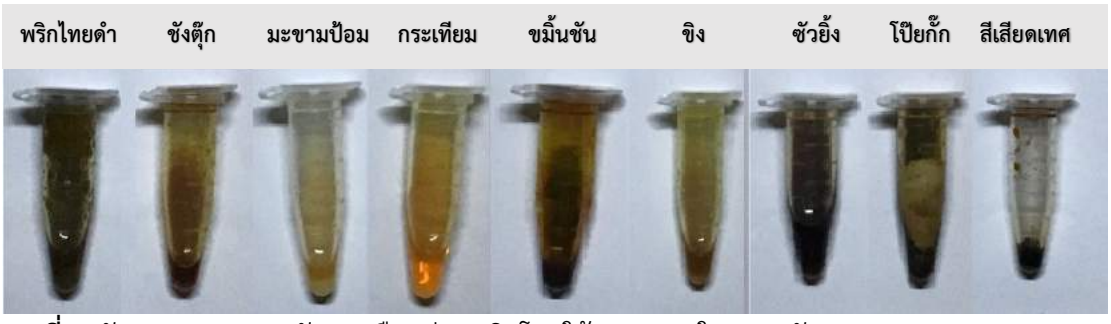
ซึ่ง FIC (A) คือค่า MIC ของสารสกัดจากพืช/ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชรวมกับยาปฏิชีวนะ และ FIC (B) คือค่า MIC ของยาปฏิชีวนะ/ค่า MIC ของยาปฏิชีวนะรวมกับสารสกัดจากพืช ซึ่งการแปรผลคือ $FICI \leq 0.5$ หมายถึง เสริมฤทธิ์กัน (synergism), $0.5 < FICI \leq 0.75$ หมายถึง สารทั้งสองชนิดมีการเสริมฤทธิ์กันบางส่วน (partial synergism), $0.75 < FICI \leq 2$ หมายถึง ไม่พบการเสริมฤทธิ์ของสารทั้งสองชนิด (non synergism) และถ้า $FICI > 2$ หมายถึง สารทั้งสองชนิดต้านฤทธิ์กัน (antagonism) (Didry และคณะ., 1993)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

จากการนำพืชแต่ละชนิดมาสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด คือ เมทานอลและอะซีโตน และนำสารสกัดที่ได้จากพืชมากรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่ได้ไประเหยแห้งแบบสุญญากาศภายใต้ความดัน และละลายสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และกรองด้วยหัวกรองสำเร็จ (syringe filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร พบว่าสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดมีลักษณะของสีและความหนืดที่แตกต่างกันไปดังรูปที่ 7, 8 และตารางที่ 2



รูปที่ 7 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้เมทานอลในการสกัด

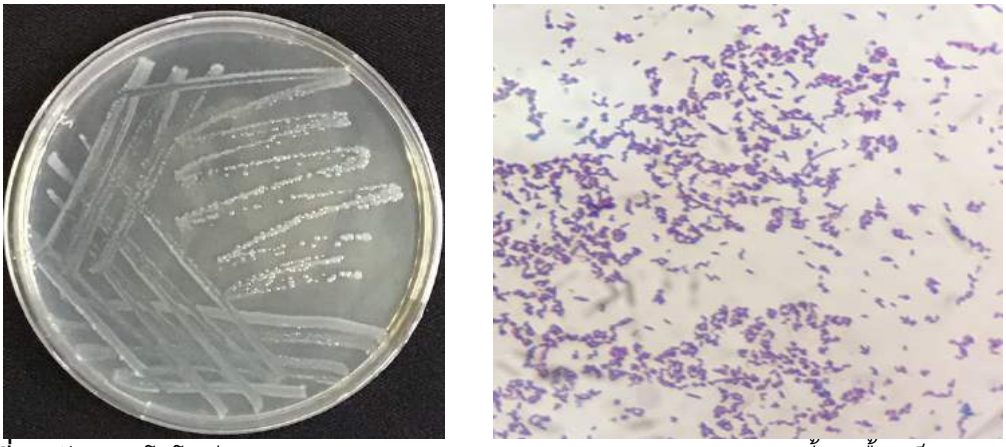
รูปที่ 8 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้อะซีโตนในการสกัด

ตารางที่ 2 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดโดยใช้เมทานอลและอะซีโตนในการสกัด

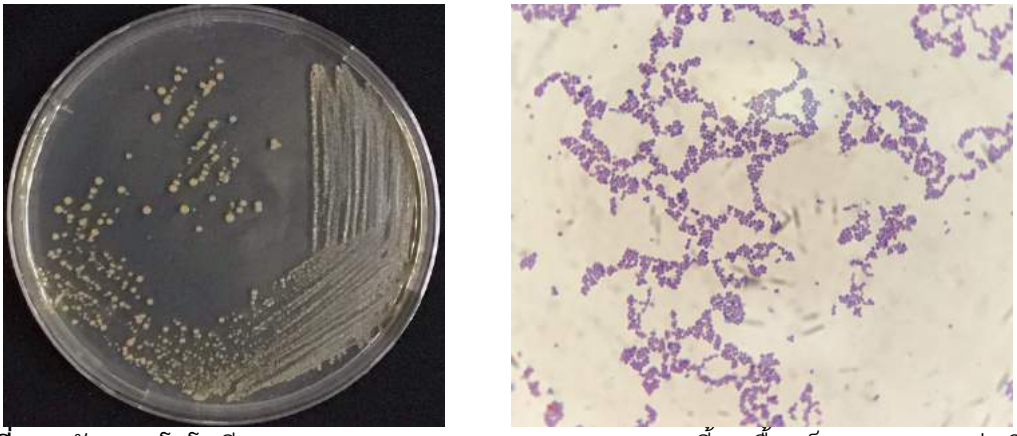
พืช	ลักษณะของสารสกัดจากพืช	
	ตัวทำละลายเมทานอล	ตัวทำละลายอะซีโตน
กระเทียม	สารละลายสีส้ม มีความหนืดเล็กน้อย	สารละลายสีส้ม มีความหนืดมาก
ขิง	สารละลายสีน้ำตาลอ่อน มีความหนืดเล็กน้อย	สารละลายสีเหลือง มีความหนืดเล็กน้อย
ขมิ้นชัน	สารละลายสีแดงเข้ม มีความหนืดปานกลาง	สารละลายสีแดงเข้ม มีความหนืดมาก
ชังตุ๊ก	ละลายสีน้ำตาลเข้ม มีความหนืดเล็กน้อย	ละลายสีน้ำตาลแดง มีความหนืดปานกลาง
ชัวยิ้ง	สารละลายสีน้ำตาลเข้ม มีความหนืดเล็กน้อย	สารละลายสีน้ำตาลเข้ม มีความหนืดเล็กน้อย
โป๊ยกั๊ก	สารละลายสีแดงเข้ม มีความหนืดปานกลาง	สารละลายสีแดงเข้มถึงดำ มีความหนืดเล็กน้อย
พริกไทยดำ	สารละลายสีน้ำตาลเข้ม มีความหนืดเล็กน้อย	สารละลายสีดำ มีความหนืดมาก
มะขามป้อม	สารละลายสีส้ม มีความหนืดปานกลาง	สารละลายสีน้ำตาล มีความหนืดเล็กน้อย
สีเสียดเทศ	สารละลายสีแดงเข้ม มีความหนืดปานกลาง	สารละลายสีแดงเข้ม มีความหนืดมาก

4.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

นำจุลินทรีย์ทดสอบ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Listeria monocytogenes* MSCU0253 และ *Staphylococcus aureus* MSCU0353 ที่ได้จากคลังจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% Tryptic soy agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่าลักษณะโคโลนีของ *L. monocytogenes* MSCU0253 มีรูปร่างกลม สีขาวขุ่น ขอบเรียบ มีความวาวแสง เมื่อย้อมสีแกรม และศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง ติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลตดังรูปที่ 9 และลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* MSCU0353 มีรูปร่างกลม สีเหลืองส้ม ขอบเรียบ และเมื่อย้อมสีแกรม และศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าพบว่ามีลักษณะรูปร่างกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มลักษณะคล้ายพวงองุ่น ติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลตดังรูปที่ 10



รูปที่ 9 ลักษณะโคโลนีของ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% TSA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



รูปที่ 10 ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* MSCU0353 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% TSA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี agar disc diffusion

นำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353 โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/mL เกลี่ยลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง 50% Tryptic soy agar จากนั้นวางแผ่นกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่มีการชุบสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 20 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง โดยใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เป็นตัวควบคุมผลบวก และ ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ 10% เป็นตัวควบคุมผลลบ และติดตามผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น ได้ผลดังตารางที่ 3, 4 และรูปที่ 11, 12 คือ สารสกัดจากมะขามป้อม และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้าน *L. monocytogenes* MSCU0253 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.00±1.00 ถึง 10.67±0.58 มิลลิเมตร และสารสกัดจากขมิ้นชัน ชังตุ๊ก ชัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก มะขามป้อม และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการต้าน *L. monocytogenes* MSCU0253 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.33±2.31 ถึง 11.00±1.00 มิลลิเมตร สารสกัดจากขมิ้นชัน ชังตุ๊ก ชัวยิ้ง และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* MSCU0353 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 9.33±0.58 ถึง 11.00±0.00 มิลลิเมตร และสารสกัดจากขมิ้นชัน ชัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก พริกไทยดำ และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* MSCU0353 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.33±0.58 ถึง 10.33±0.58 มิลลิเมตร

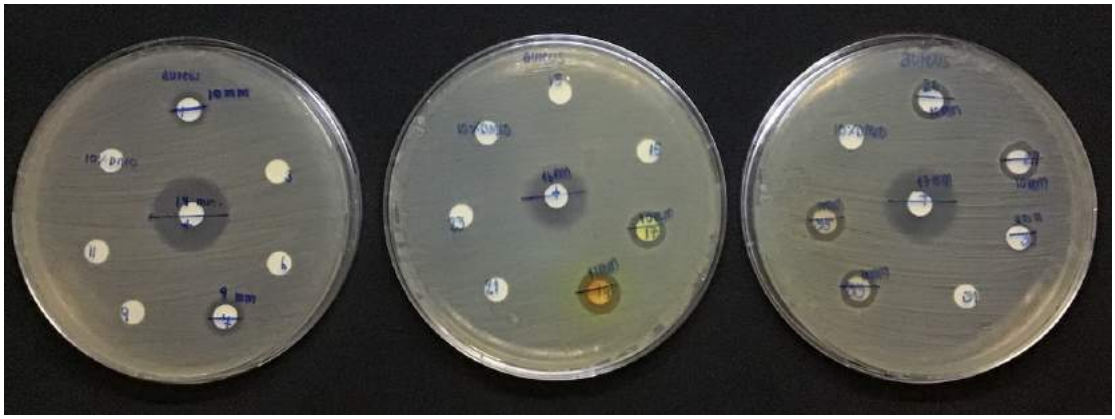
ตารางที่ 3 เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

สารสกัดจากพืช	เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
	เมทานอล	อะซีโตน
กระเทียม	0	0
ขิง	0	0
ขมิ้นชัน	0	9.67±0.58
ชังตุ๊ก	0	9.33±0.58
ชัวยิ้ง	0	9.00±1.00
โป๊ยกั๊ก	0	8.67±0.58
พริกไทยดำ	0	0
มะขามป้อม	10.67±0.58	11.00±1.00
สีเสียดเทศ	8.00±1.00	8.33±2.31
ตัวควบคุมผลบวก	14.00±1.00	
ตัวควบคุมผลลบ	0	

รูปที่ 11 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 ด้วยวิธี agar disc diffusion

ตารางที่ 4 เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *S. aureus* MSCU0353

สารสกัดจากพืช	เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
	เมทานอล	อะซีโตน
กระเทียม	0	0
ขิง	0	0
ขมิ้นชัน	11.00±0.00	9.67±1.53
ชังตุ๊ก	9.33±0.58	0
ซัวยิ้ง	10.33±0.58	10.33±0.58
โป๊ยกั๊ก	0	8.33±0.58
พริกไทยดำ	0	9.67±0.58
มะขามป้อม	0	0
สีเสียดเทศ	9.33±0.58	9.67±0.58
ตัวควบคุมผลบวก	17.00±1.00	
ตัวควบคุมผลลบ	0	



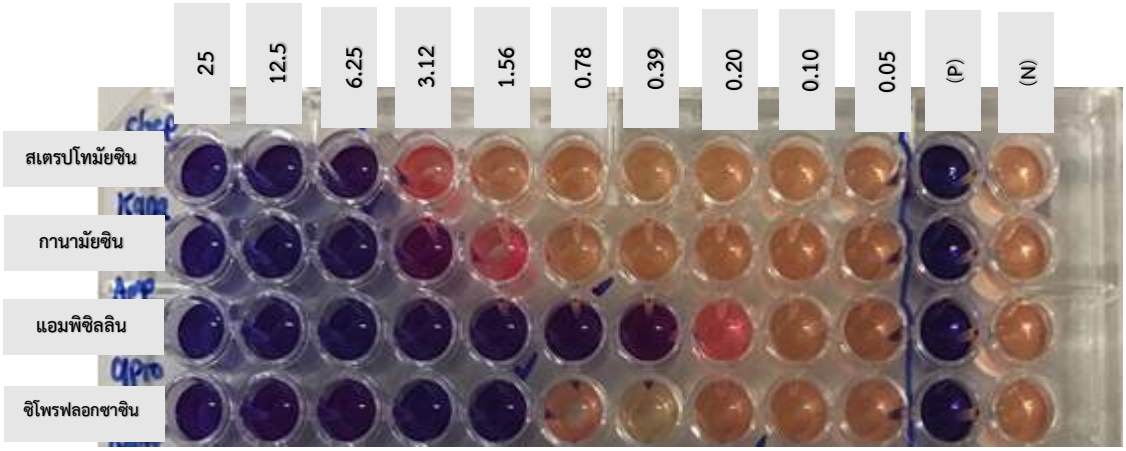
รูปที่ 12 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อ *S. aureus* MSCU0353 ด้วยวิธี agar disc diffusion

4.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) โดยวิธี broth microdilution

เตรียมยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 50%TSB ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 50-0.195 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบที่มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลตหลุมละ 100 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติมอินดิเคเตอร์คือ เรซาซูริน 0.015% 30 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง ได้ผลดังตารางที่ 5 รูปที่ 13 และรูปที่ 14พบว่ายาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353 มากที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อยู่ที่ 0.78 และ 0.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353

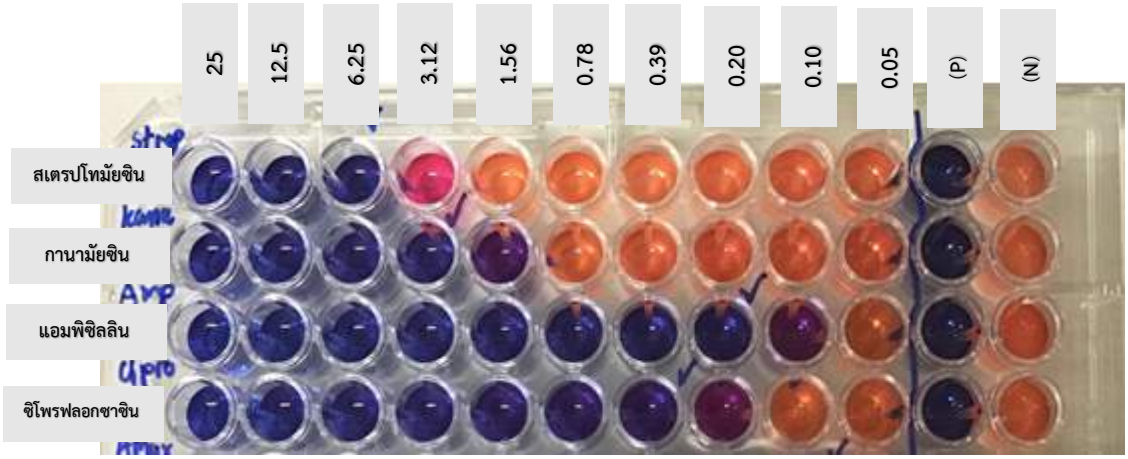
ยาปฏิชีวนะ	MIC (µg/mL)	
	L. monocytogenes	*S. aureus*
สเตรปโทมัยซิน (Strep)	6.25	6.25
กานามัยซิน (Kana)	6.25	3.12
แอมพิซิลลิน (Amp)	0.78	0.20
ซิโพรฟลอกซาซิน (Cipro)	1.56	0.39



รูปที่ 13 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนไมโครเพลต

หมายเหตุ: (P) คือ ยาปฏิชีวนะที่ทดสอบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(N) คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ



รูปที่ 14 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 บนไมโครเพลต

หมายเหตุ: (P) คือ ยาปฏิชีวนะที่ทดสอบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(N) คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

4.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) โดยวิธี Broth microdilution

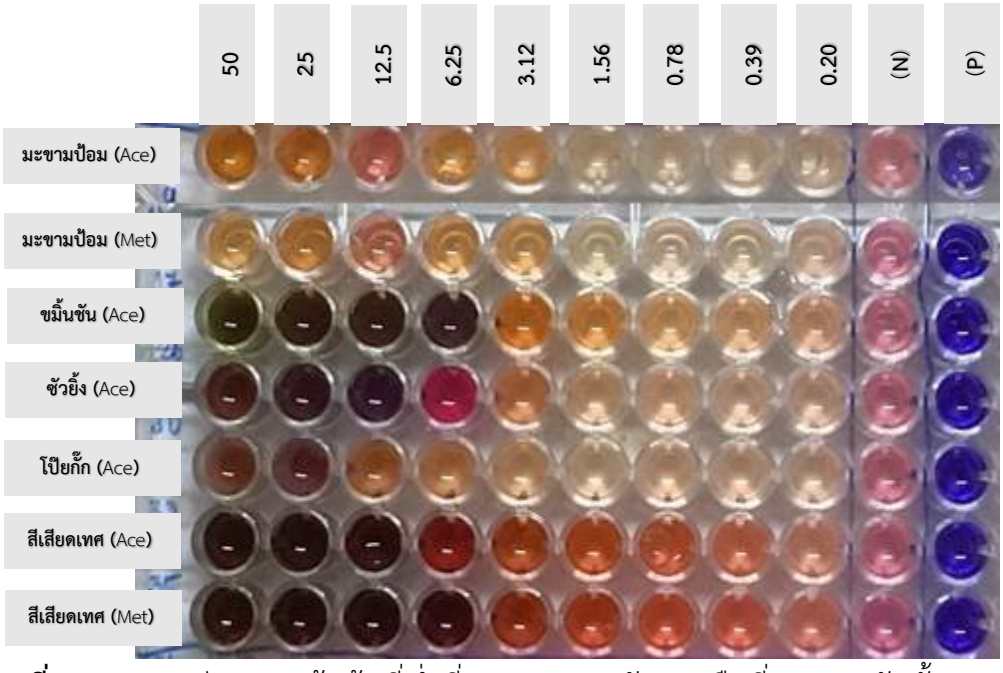
นำสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์จาก 4.3 มาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353 โดยเตรียมสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 50%TSB ให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 100-0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบที่มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลตหลุมละ 100 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติม เรซาซูริน 0.015% 30 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง ได้ผลดังตารางที่ 6 รูปที่ 15 และรูปที่ 16 คือ สารสกัดจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด มากที่สุดโดยขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 มากที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้อยู่ที่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขมิ้นชันที่สกัดได้จากเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus*

MSCU0353 มากที่สุดโดยมีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้อยู่ที่ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

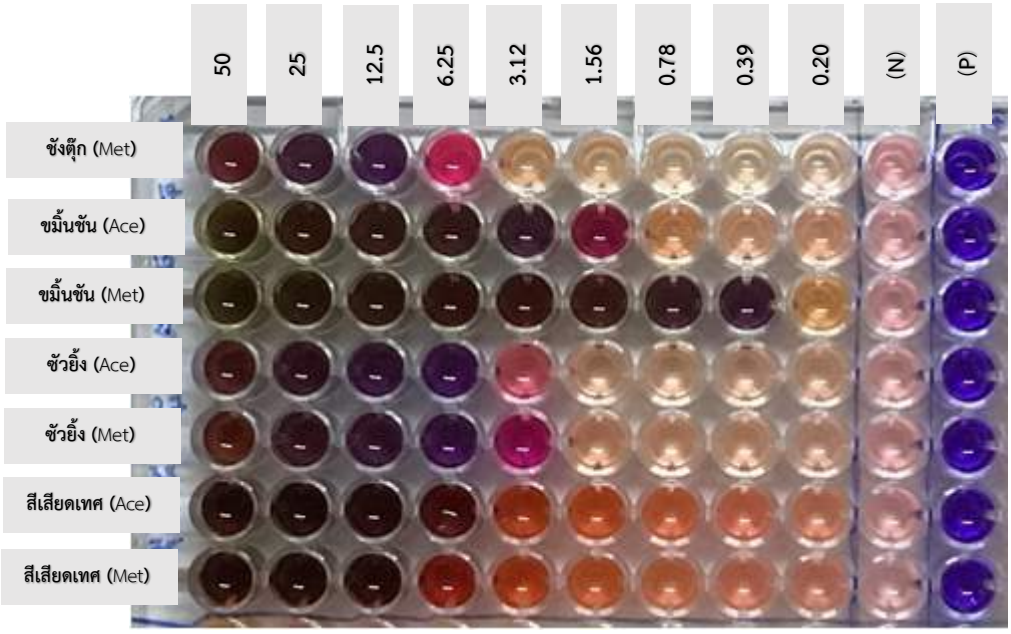
ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353

สารสกัดจากพืช	MIC (mg/mL)	
	L. monocytogenes	*S. aureus*
ขมิ้นชัน (Met)	NT	0.78
ขมิ้นชัน (Ace)	6.25	3.12
ชังตุ๊ก (Met)	NT	12.5
ซัวยิ้ง (Met)	NT	6.25
ซัวยิ้ง (Ace)	12.5	6.25
โป๊ยกั๊ก (Ace)	25	NT
มะขามป้อม (Met)	25	NT
มะขามป้อม (Ace)	25	NT
สีเสียดเทศ (Met)	12.5	12.5
สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	12.5

หมายเหตุ: NT หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ (Ace) หมายถึง ตัวทำละลายอะซีโตน (Met) หมายถึง ตัวทำละลายเมทานอล



รูปที่ 15 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 บนไมโครเพลต



รูปที่ 16 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 บนไมโครเพลต

หมายเหตุ: (P) คือ ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(N) คือ ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ 10%

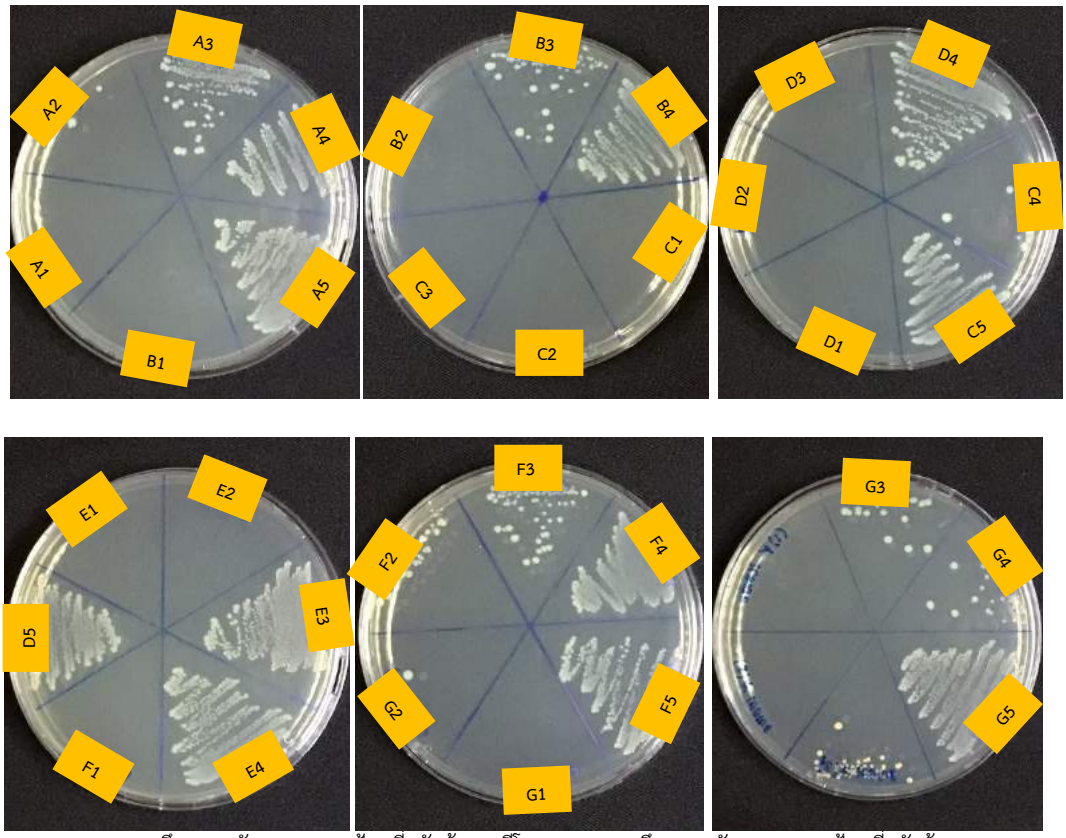
4.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum bactericidal concentration)

โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อจุ่มลงในหลุมของไมโครเพลตจากการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ไม่พบการเปลี่ยนสีของเรซาซูรินหลังจากการบ่มมาเพาะเชื้อโดยการขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA และนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ได้ผลดังตารางที่ 7 และรูปที่ 17, 18 คือ สารสกัดจากขมิ้นชัน และซัวยิ้ง ที่สกัดด้วยอะซีโตนมีความฤทธิ์ในการฆ่า *L. monocytogenes* MSCU0253 ได้ดีที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้อยู่ที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอลมีความสามารถในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* MSCU0353 ได้ดีที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้อยู่ที่ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353

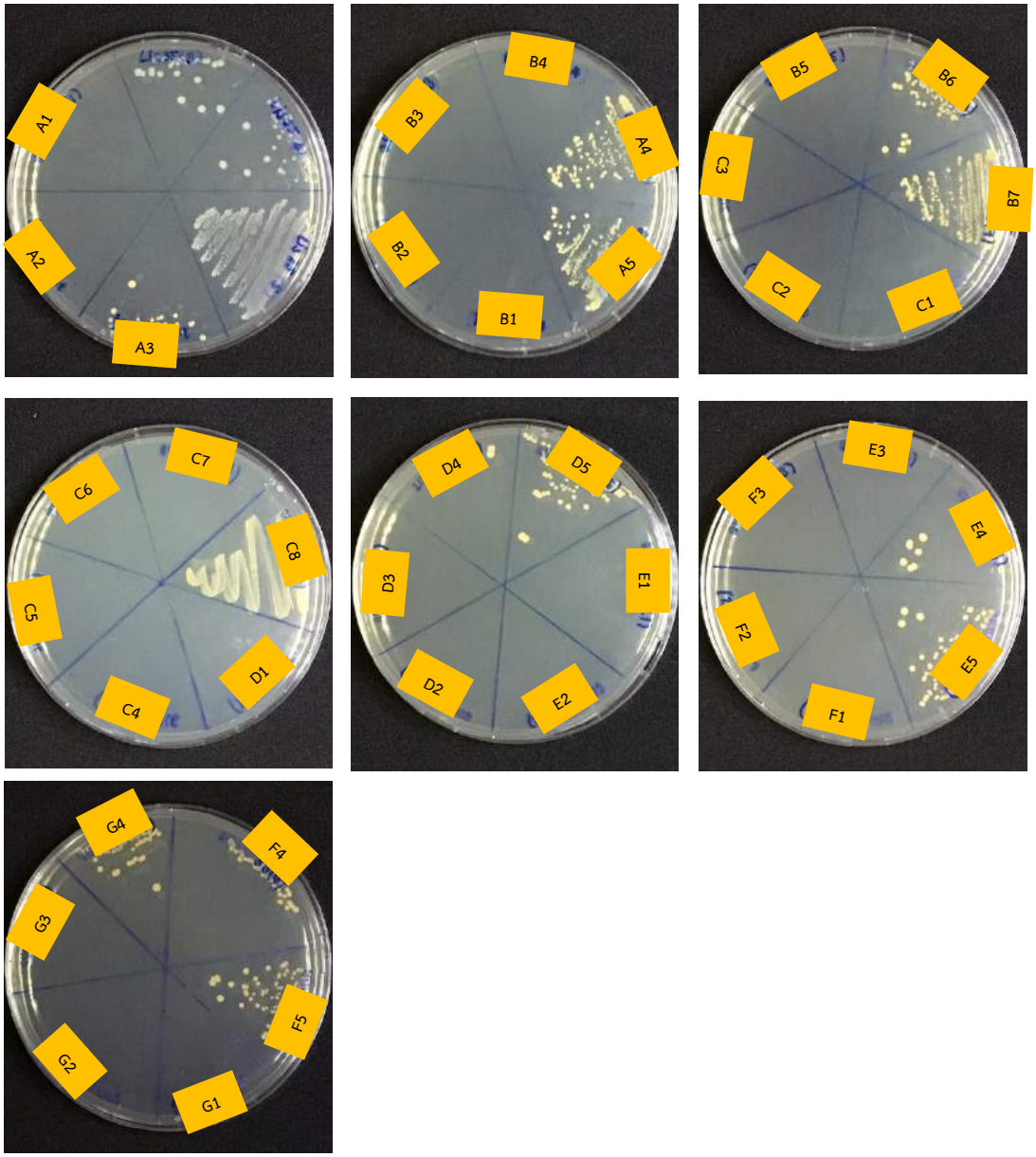
สารสกัดจากพืช	MBC (mg/mL)	
	L. monocytogenes	*S. aureus*
ขมิ้นชัน (Met)	NT	0.78
ขมิ้นชัน (Ace)	12.5	3.12
ชังตุ๊ก (Met)	NT	25
ซัวยิ้ง (Met)	NT	12.5
ซัวยิ้ง (Ace)	12.5	12.5
โป๊ยกั๊ก (Ace)	25	NT
มะขามป้อม (Met)	25	NT
มะขามป้อม (Ace)	50	NT
สีเสียดเทศ (Met)	50	12.5
สีเสียดเทศ (Ace)	50	12.5

หมายเหตุ: NT หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ (Ace) หมายถึง ตัวทำละลายอะซีโตน (Met) หมายถึง ตัวทำละลายเมทานอล



หมายเหตุ: A หมายถึง สารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยอะซีโตน B หมายถึง สารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอล
C หมายถึง สารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตน D หมายถึง สารสกัดจากขัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตน
E หมายถึง สารสกัดจากโป๊ยกั๊กที่สกัดด้วยอะซีโตน F หมายถึง สารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน
G หมายถึง สารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอล 1 หมายถึง ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2 หมายถึง ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3 หมายถึง ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4 หมายถึง ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 5 หมายถึง ความเข้มข้น 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 17 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *L. monocytogenes* MSCU0253 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA



หมายเหตุ: A หมายถึง สารสกัดจากชังตุ๊กที่สกัดด้วยเมทานอล B หมายถึง สารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตน
C หมายถึง สารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอล D หมายถึง สารสกัดจากชัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตน
E หมายถึง สารสกัดจากชัวยิ้งที่สกัดด้วยเมทานอล F หมายถึง สารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน
G หมายถึง สารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอล 1 หมายถึง ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2 หมายถึง ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3 หมายถึง ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4 หมายถึง ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 5 หมายถึง ความเข้มข้น 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6 หมายถึง ความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 7 หมายถึง ความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
8 หมายถึง ความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 18 การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *S. aureus* MSCU0353 บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50%TSA

4.7 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ ทดสอบด้วยวิธี checkerboard

โดยเจือจางสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/4 เท่าของ MIC และปิเปตต์สารสกัดจากพืชที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 25 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต เจือจางยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลินและซิโพรฟลอกซาซิน ให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/16 เท่าของ MIC และปิเปตต์ยาปฏิชีวนะที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 25 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต จากนั้นเติมเชื้อทดสอบความเข้มข้น 10^6 CFU/mL 50 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง นำมาเติม เรซาซูริน 0.015% 15 ไมโครลิตร และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง ได้ผลตามตารางที่ 8, 9, 10 (ภาคผนวก), 11 (ภาคผนวก) และรูปที่ 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 ซึ่งจากตารางที่ 8 และ 10 แสดงผลการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 โดยพบว่าสารสกัดจากซัวยิ้ง และสีเสียดเทศด้วยอะซีโตนมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินและกานามัยซินในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 ได้มากที่สุดโดยมีค่า FICI อยู่ที่ 0.38 และจากตารางที่ 9 และ 11 แสดงผลการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 พบว่าสารสกัดจากชังตุ๊กด้วยเมทานอลมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 ได้มากที่สุด โดยมีค่า FICI อยู่ที่ 0.19

ตารางที่ 8 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

การทดสอบ	FICI	ผลที่ได้
ขมิ้นชัน (Ace) + Strep	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Kana	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Amp	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Cipro	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง (Ace) + Strep	0.38	เสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง (Ace) + Kana	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ซัวยิ้ง (Ace) + Amp	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง (Ace) + Cipro	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Ace) + Strep	0.38	เสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Ace) + Kana	0.38	เสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Ace) + Amp	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ (Ace) + Cipro	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Strep	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Kana	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ (Met) + Amp	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ (Met) + Cipro	>2.00	ต้านฤทธิ์

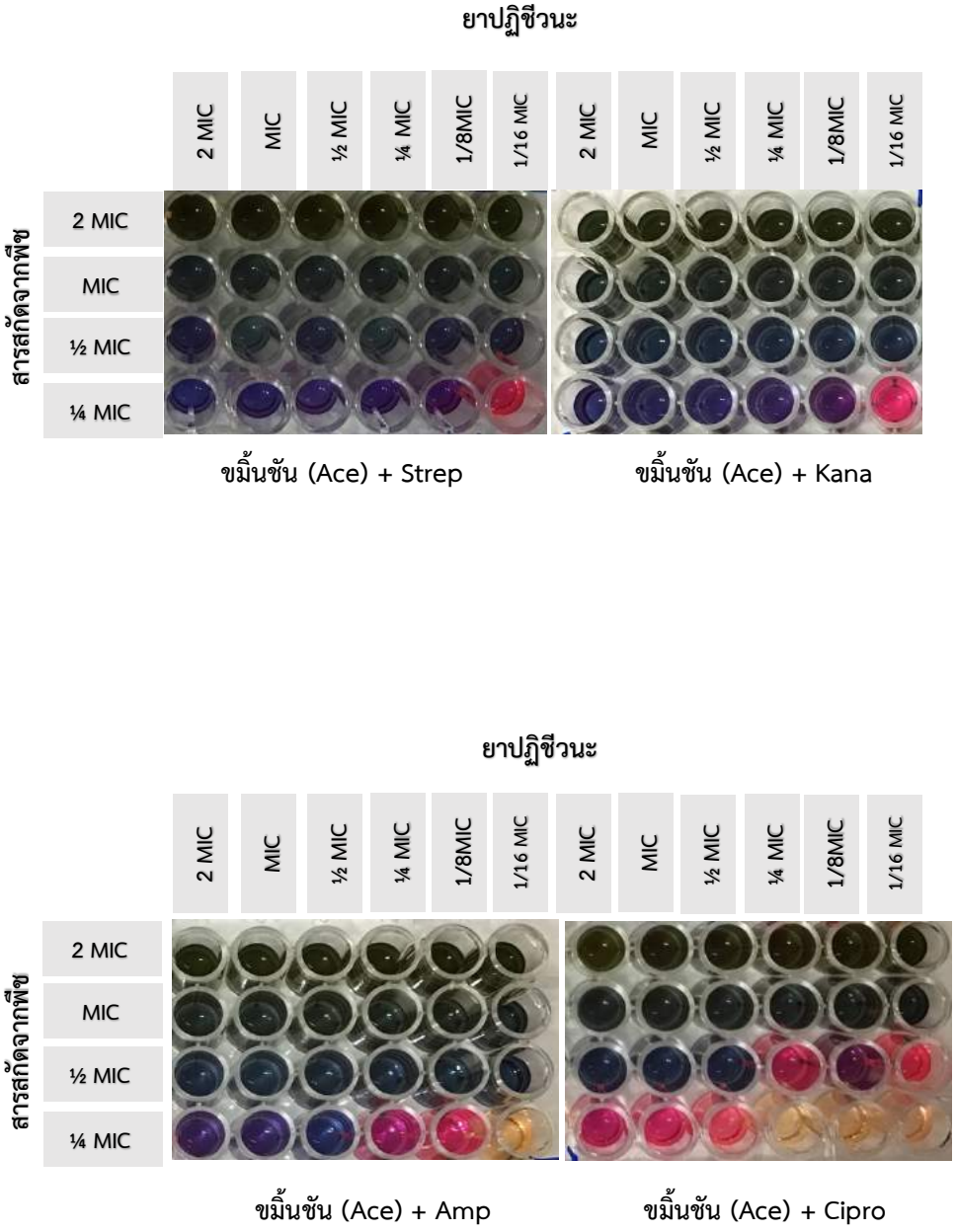
FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

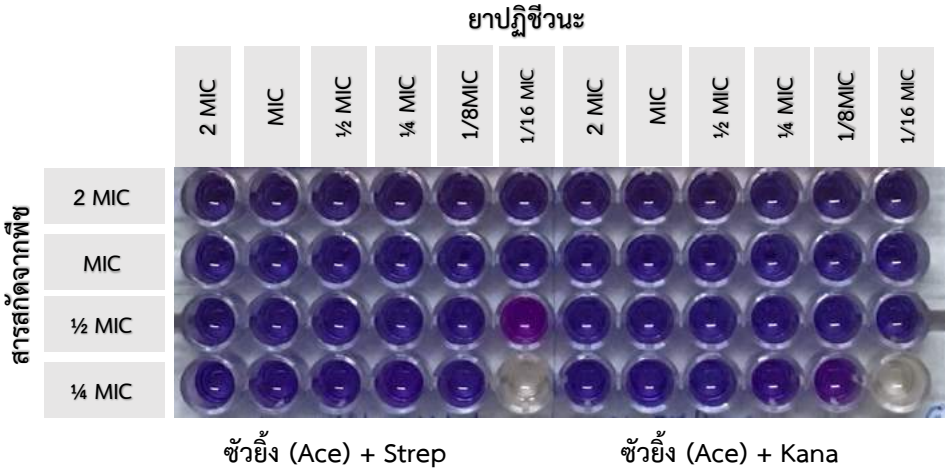
ตารางที่ 9 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353

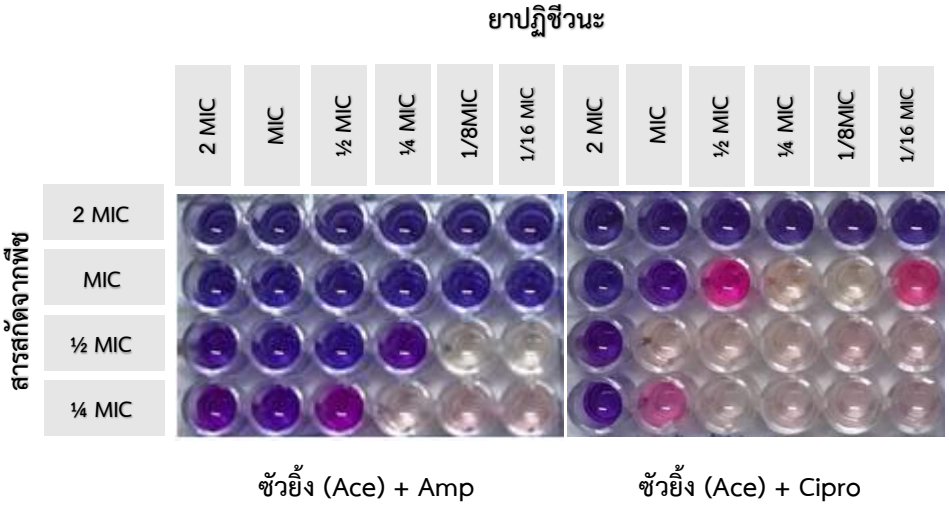
การทดสอบ	FICI	ผลที่ได้
ชังตุ๊ก (Met) + Strep	0.19	เสริมฤทธิ์
ชังตุ๊ก (Met) + Kana	0.38	เสริมฤทธิ์
ชังตุ๊ก (Met) + Amp	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ชังตุ๊ก (Met) + Cipro	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Strep	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Kana	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Ace) + Amp	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ขมิ้นชัน (Ace) + Cipro	>2.00	ต้านฤทธิ์
ขมิ้นชัน (Met) + Strep	0.31	เสริมฤทธิ์
ขมิ้นชัน (Met) + Kana	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ขมิ้นชัน (Met) + Amp	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ขมิ้นชัน (Met) + Cipro	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ชัวยิ้ง (Ace) + Strep	0.50	เสริมฤทธิ์
ชัวยิ้ง (Ace) + Kana	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
ชัวยิ้ง (Ace) + Amp	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ชัวยิ้ง (Ace) + Cipro	1.13	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Ace) + Strep	0.38	เสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Ace) + Kana	0.63	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ (Ace) + Amp	0.63	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ (Ace) + Cipro	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Strep	0.38	เสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Kana	0.50	เสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Amp	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ (Met) + Cipro	>2.00	ต้านฤทธิ์

FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์
Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

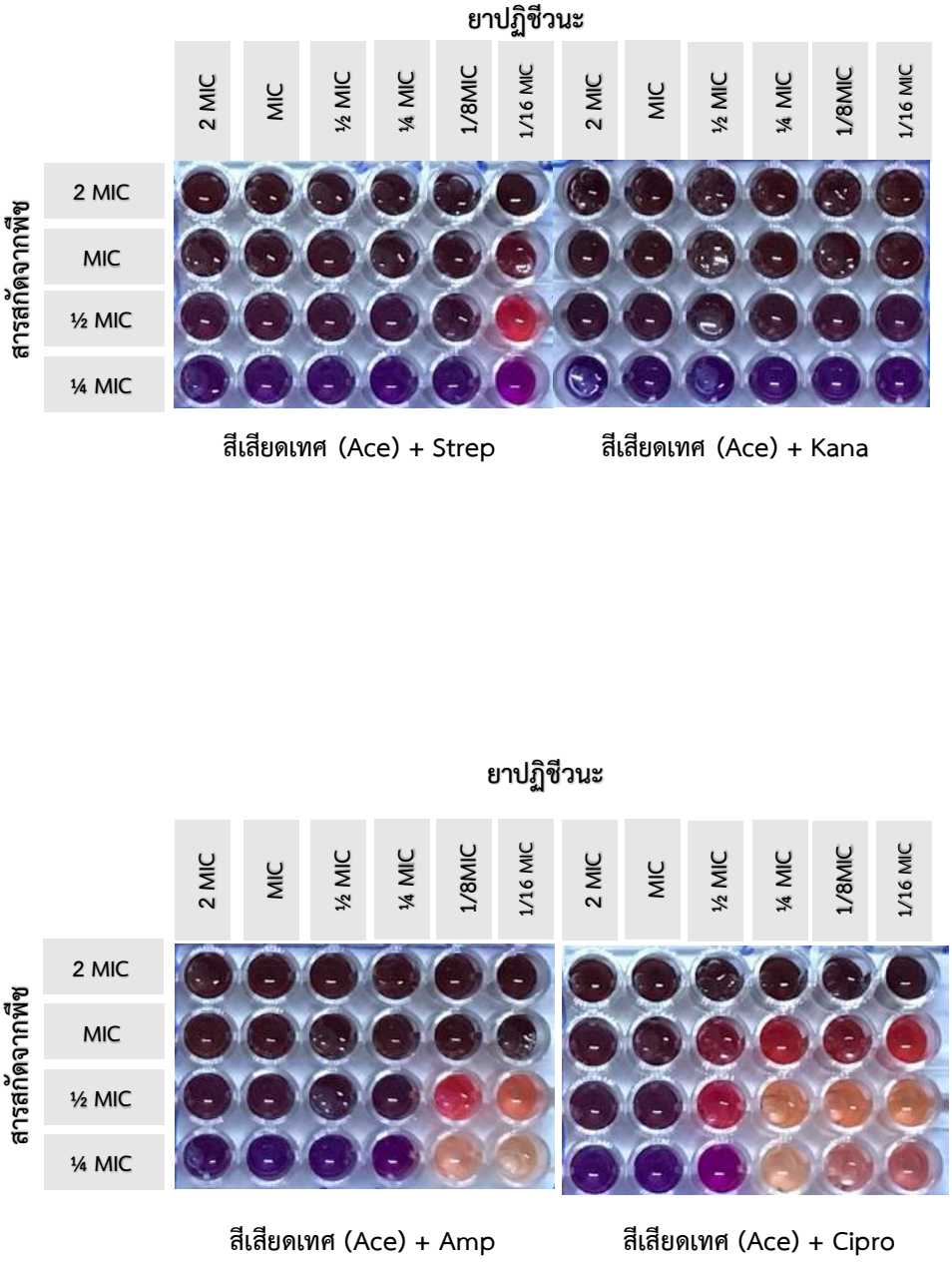


รูปที่ 19 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

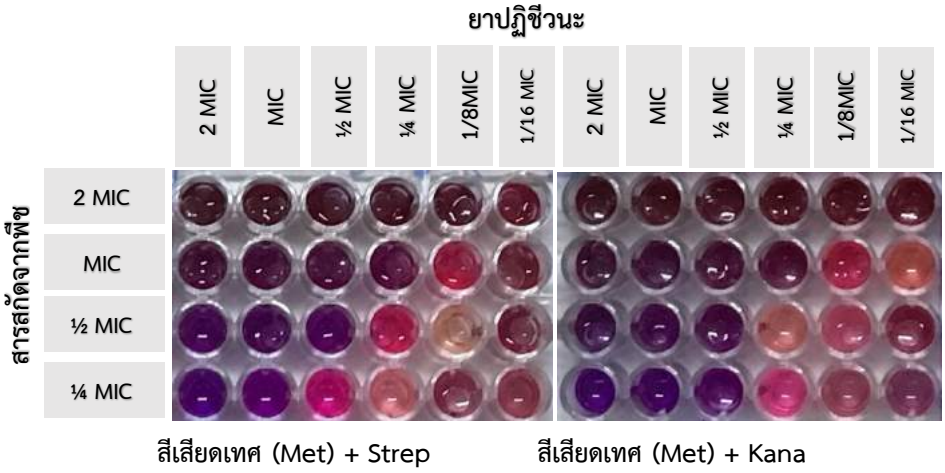


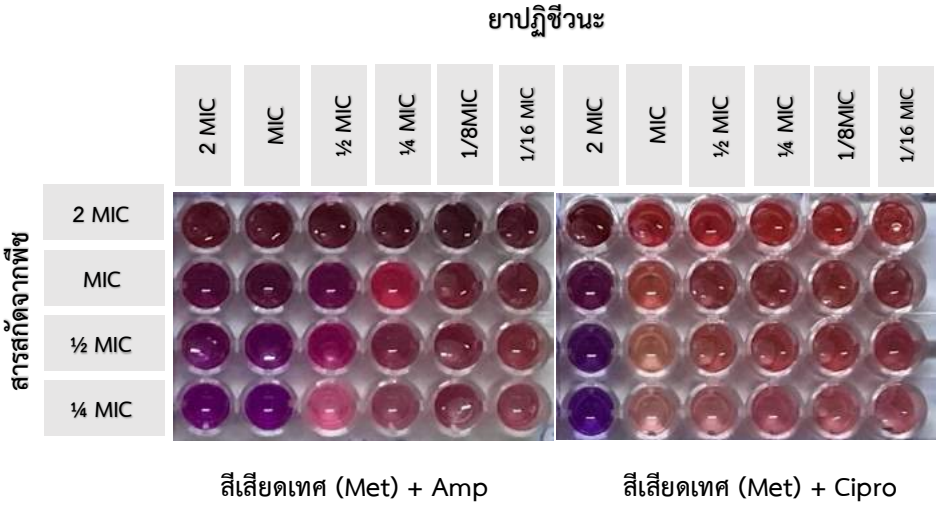


รูปที่ 20 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากซัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

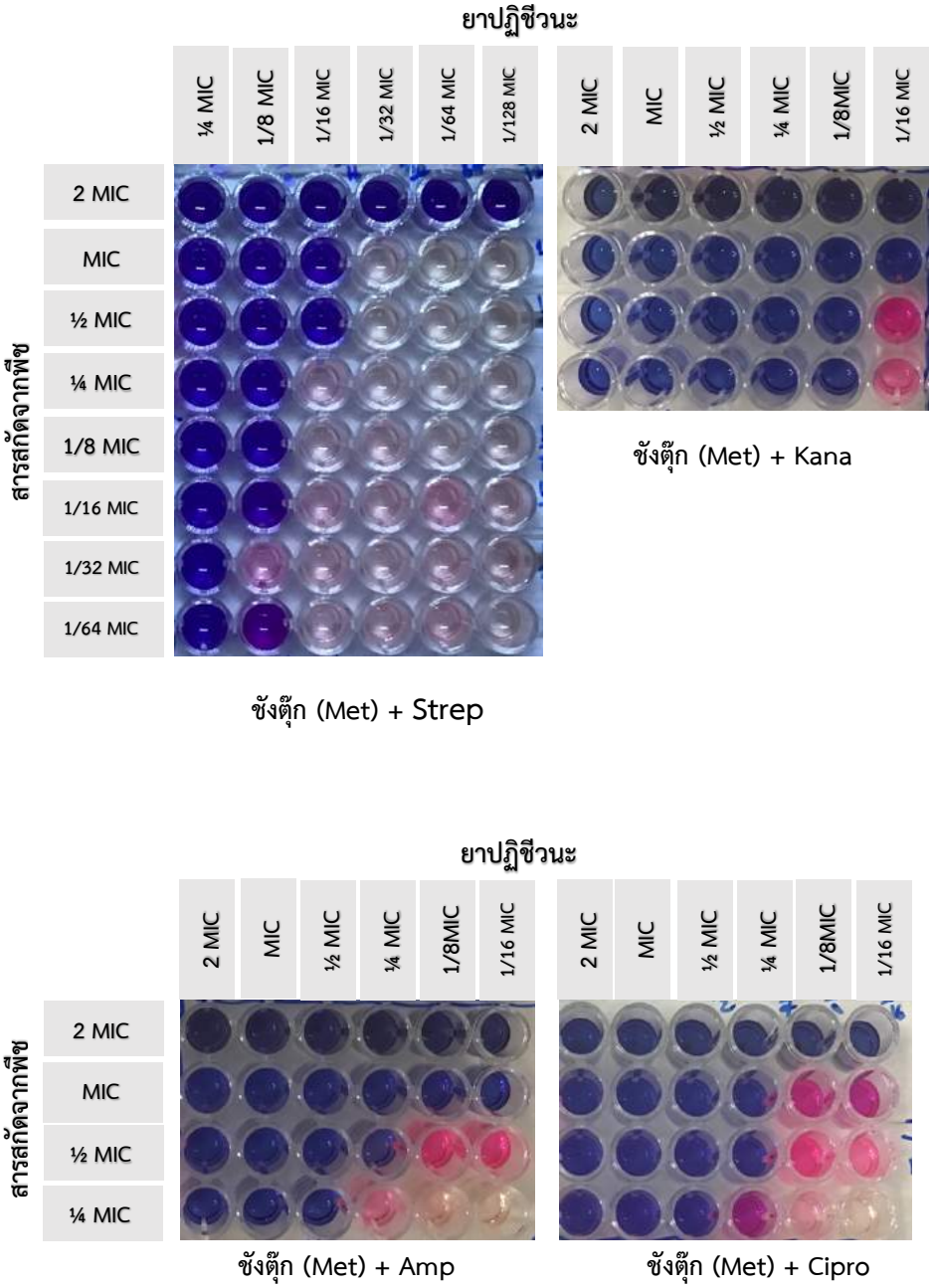


รูปที่ 21 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

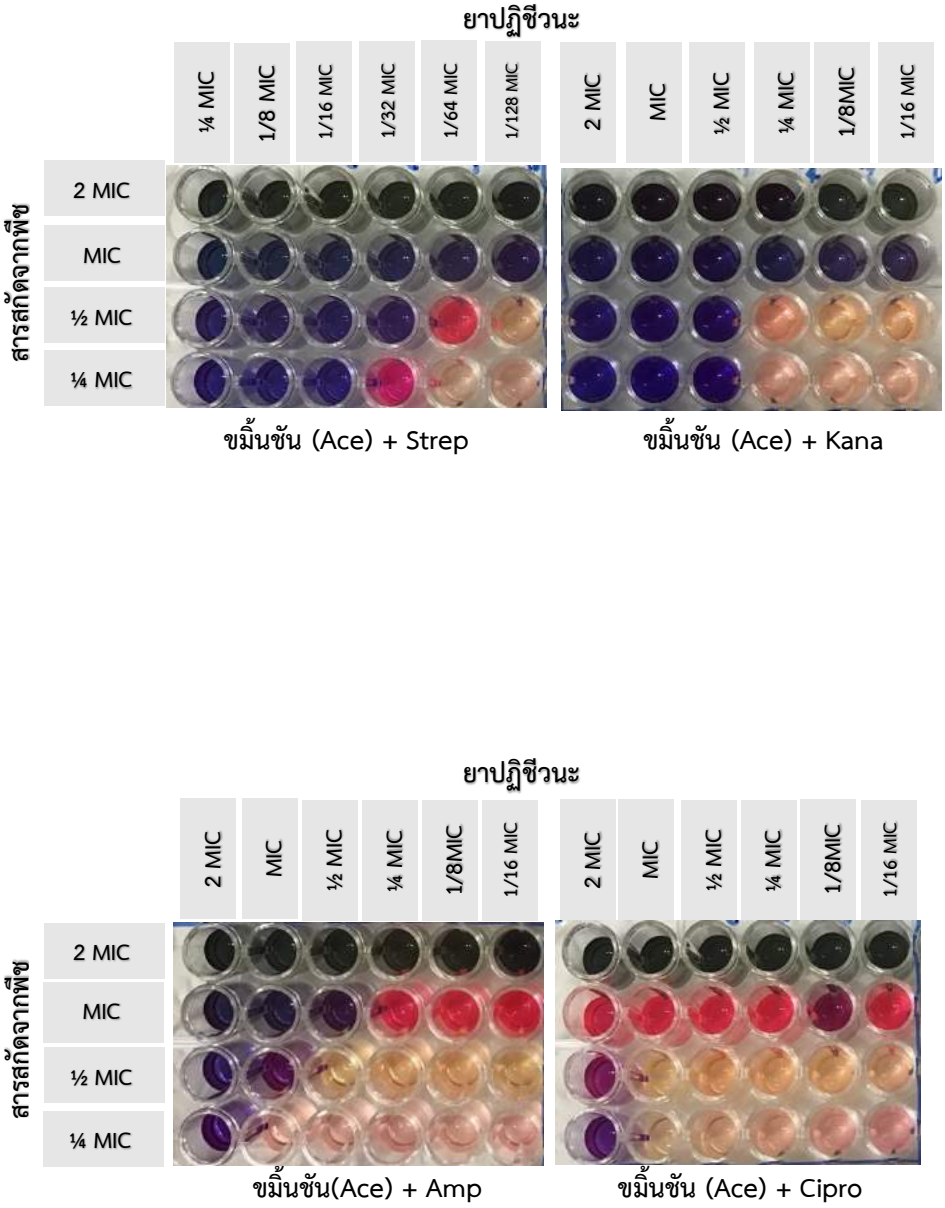




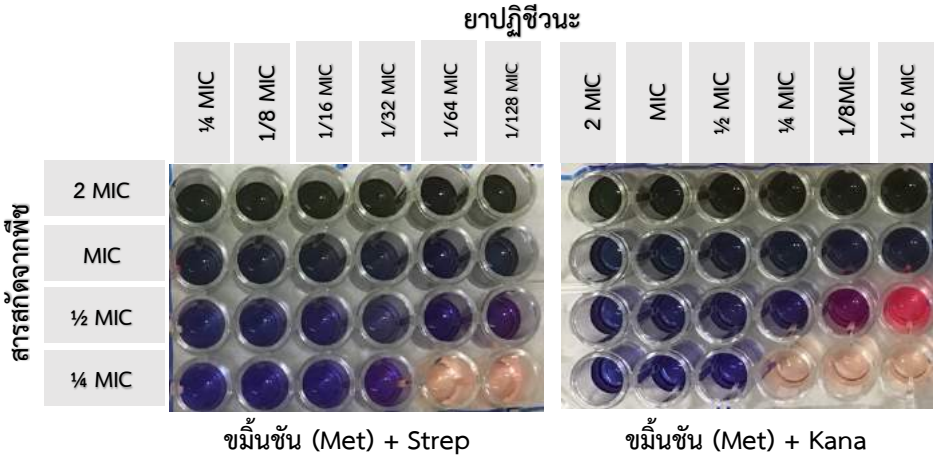
รูปที่ 22 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

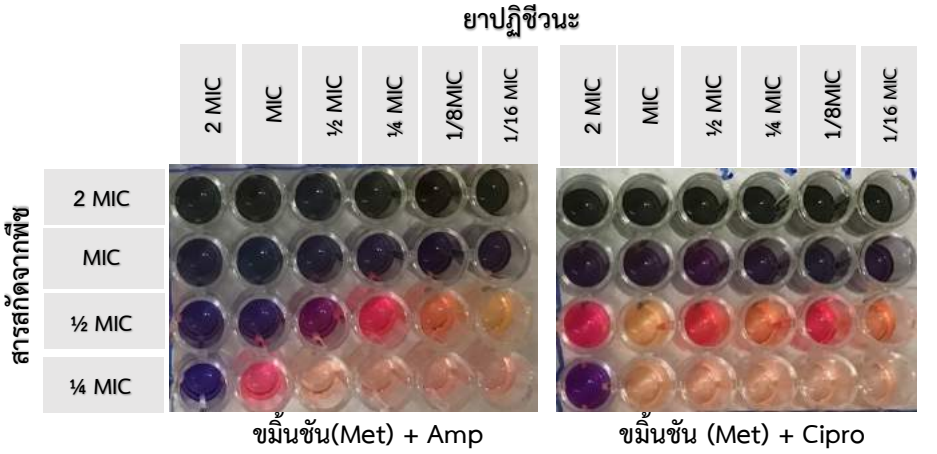


รูปที่ 23 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากชังตุ๊กที่สกัดด้วยเมทานอลกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353

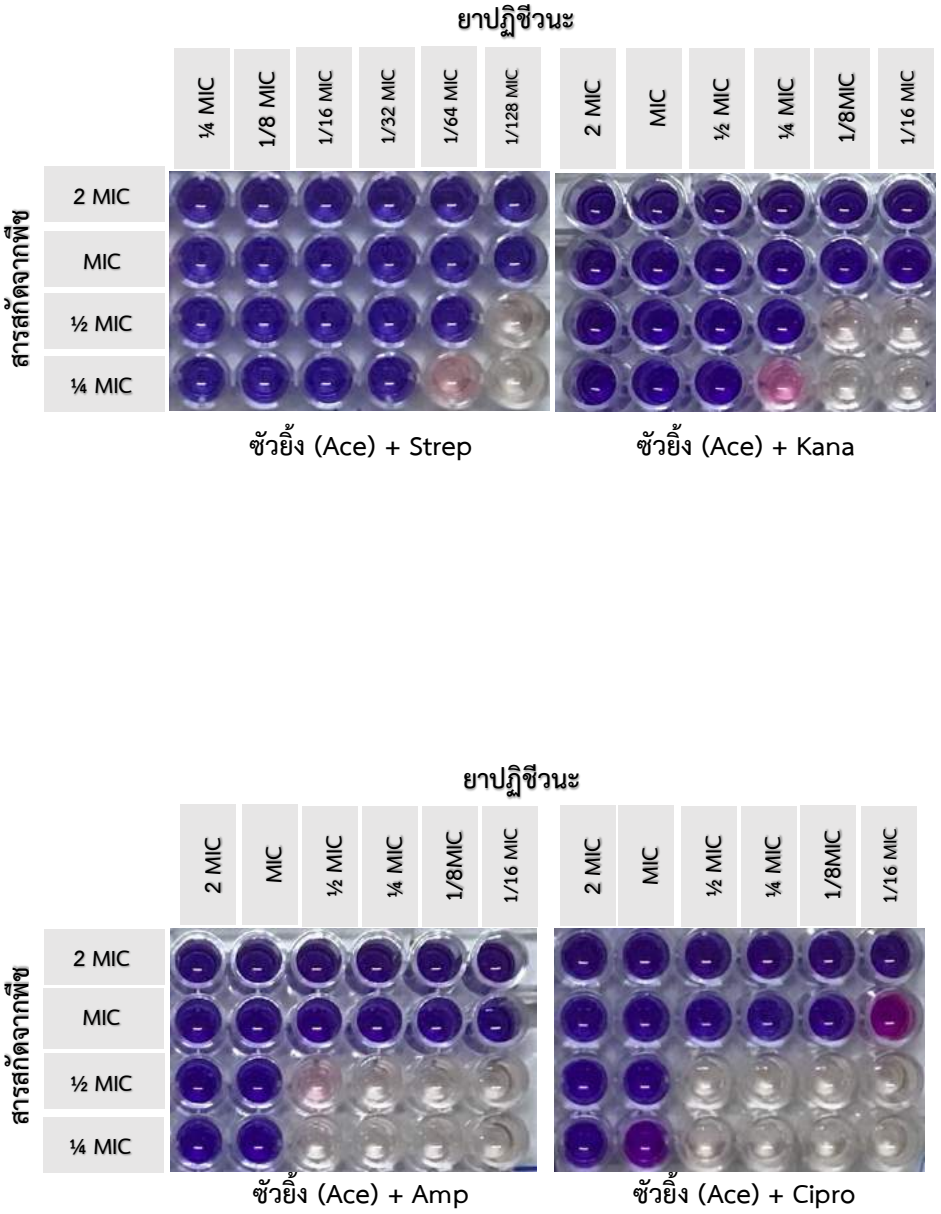


รูปที่ 24 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353

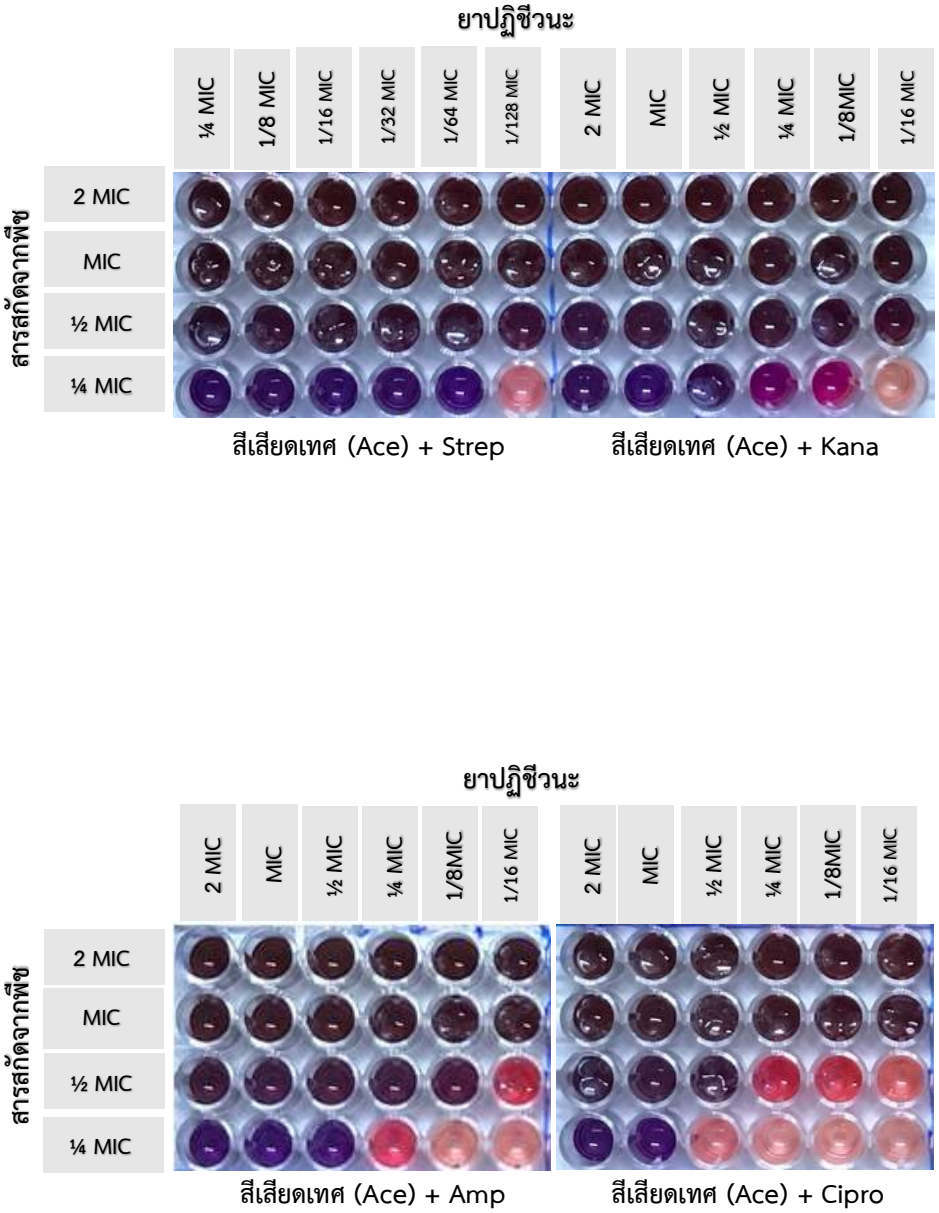




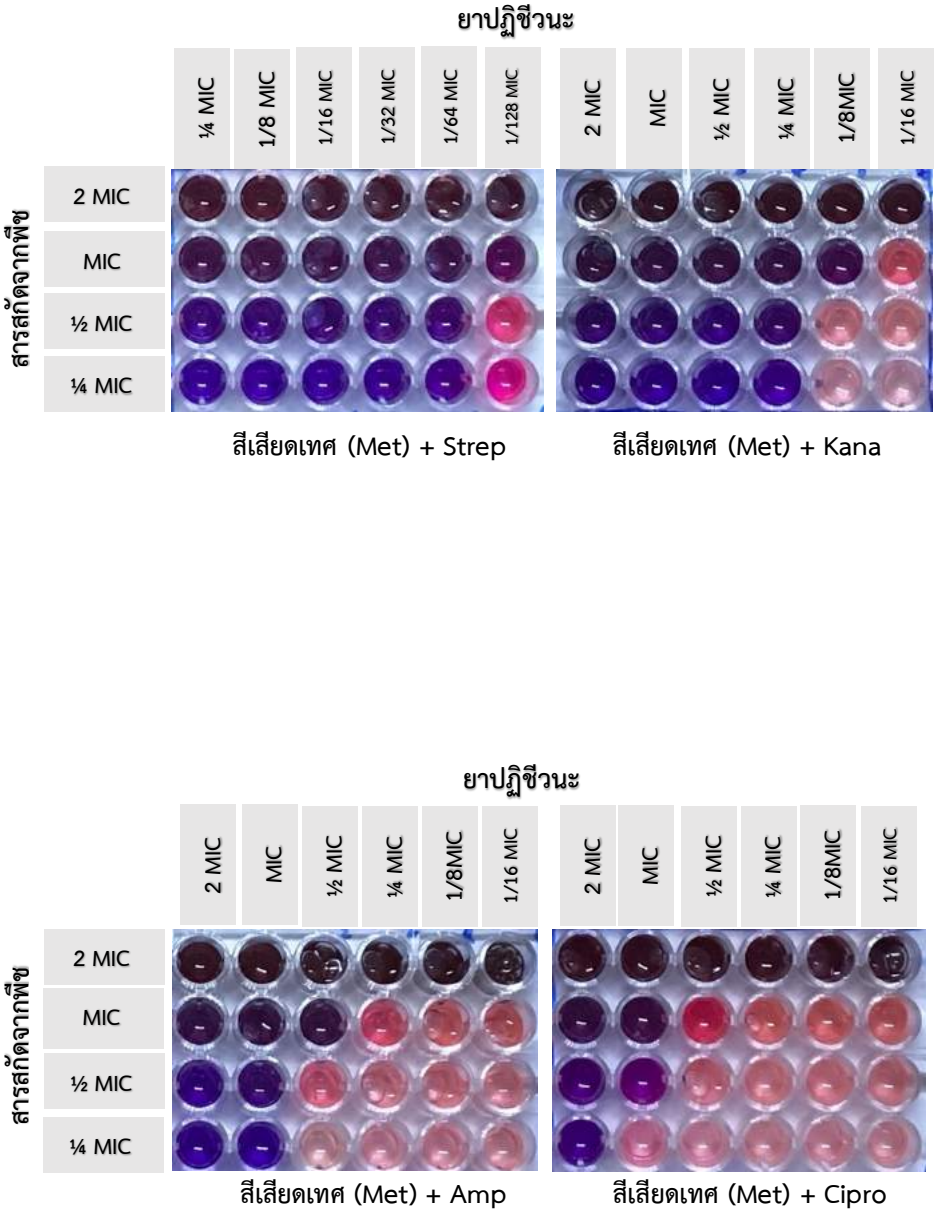
รูปที่ 25 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอลกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353



รูปที่ 26 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากซัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353



รูปที่ 27 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353



รูปที่ 28 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลกับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี checkerboard ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กระเทียม, ขิง, ขมิ้นชัน, ชังตุ๊ก ซัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก พริกไทยดำ มะขามป้อม และสีเสียด โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอล และอะซีโตนนั้นพบว่า สารสกัดที่สกัดได้จากพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของพืช และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Jaafar และคณะ., 2007) โดยมีหลากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดของพืชเช่น ส่วนของพืชที่นำมาใช้สกัด องค์ประกอบของดินที่ปลูก อายุพืช เวลาที่เก็บพืช ลักษณะทางภูมิประเทศของบริเวณที่ปลูกพืช การได้รับน้ำของพืช เป็นต้น และสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Sen และ Batra., 2012) ที่กล่าวไว้ว่าสารสกัดจากพืชชนิดเดียวกันแต่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันมีผลต่อลักษณะของสารสกัด และยังส่งผลต่อฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชชนิดนั้นอีกด้วย ซึ่งสารสกัดจากพืชที่มีลักษณะที่แตกต่างกันอาจส่งผลเป็นองค์ประกอบของสารที่ประกอบอยู่ในสารสกัดชนิดนั้น ๆ ด้วย ซึ่งสารสกัดได้จากพืชในการทดลองครั้งนี้ส่วนใหญ่นั้นจะมีลักษณะสีเข้ม มีความหนืดเล็กน้อยถึงปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Aghraz และคณะ., 2017) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากพืชที่สกัดได้มีลักษณะเป็นน้ำมันเหนียวและมีสีเข้ม

สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดได้เมื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ *L. monocytogenes* MSCU0253 และ *S. aureus* MSCU0353 ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.00±1.00 ถึง 11.00±1.00 มิลลิเมตร และเมื่อนำสารสกัดจากพืชไปศึกษาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 มากที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 มากที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำไปศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและซัวยิ้ง ที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการฆ่า *L. monocytogenes* MSCU0253 ได้มากที่สุดโดยมีค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการฆ่า *S. aureus* MSCU0353 ได้มากที่สุดโดยมีค่า MBC เท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Wannissorn และคณะ., 2009) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากพืช

สมุนไพรไทยส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียหรือจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Norajit และคณะ., 2007) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้รวมไปถึงทั้ง *L. monocytogenes* และ *S. aureus* และสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Kim และคณะ., 2005) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเทตมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้อย่างมีประสิทธิภาพ และอาจเป็นแนวทางแนวทางหนึ่งที่ช่วยให้ยาปฏิชีวนะกลุ่มบีตา-แลคแทมกลับมามีประสิทธิภาพ และสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้เหมือนเดิม และสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Biswas และคณะ., 2013) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเอทานอล และเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. cereus* และ *S. aureus* แต่ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญที่แน่ชัด โดยได้มีรายงานของ (Nazzaro และคณะ., 2017) ที่กล่าวว่ากลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดมีกลไกที่แตกต่างกันเช่น การรบกวนผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์, ส่งผลกระทบต่อสมดุลของค่า pH ภายในเซลล์และนอกเซลล์เป็นต้น

การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จัดเป็นการรักษาทางเลือกวิธีหนึ่งที่ช่วยในการรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะโดยในงานวิจัยนี้ต้องการที่จะศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะเป็นแนวทางของการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะให้มากขึ้น ลดการใช้ยาปฏิชีวนะ ลดความเสี่ยงหรือผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะ และช่วยลดอัตราการดื้อยาของจุลินทรีย์หรือเป็นแนวทางให้ยาปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์ดื้อแล้วนั้นสามารถยังใช้ในการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพเหมือนเดิม โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชได้แก่ สารสกัดจากขมิ้นชัน, ซัวยิ้ง และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 และศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชัน ซัวยิ้ง สีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตน ซังตุ๊ก ขมิ้นชัน สีเสียดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 โดยพบว่าสารสกัดจากซัวยิ้ง และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 ได้ดีที่สุดโดยมีค่า FICI เท่ากับ 0.38 และสารสกัดจากซังตุ๊กที่สกัดได้จากเมทานอลมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 ได้ดีที่สุดโดยมีค่า FICI เท่ากับ 0.19 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Jouda และคณะ., 2015) ที่มีการกล่าวว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ซึ่งสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน ออฟลอกซาซิน อะมิกาซิน

ในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* ได้ และสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ (Betoni และคณะ., 2006) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากพืช 8 ชนิดที่สกัดได้จากเมทานอลมีการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะทั่วไป 13 ชนิดในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* ได้ แต่ก็ยังไม่ทราบกลไกการเสริมฤทธิ์ที่แน่ชัดแต่ได้มีรายงานของ (Hemaiswarya และคณะ., 2008) ที่กล่าวไว้ว่าการเสริมฤทธิ์โดยใช้สารประกอบ 2 ชนิดร่วมกันนั้นอาจมีประสิทธิภาพในการที่จะยับยั้งกลไกการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเป้าหมายของยาปฏิชีวนะจึงทำให้สามารถปรับเปลี่ยนกลไกการดื้อยาของจุลินทรีย์ให้น้อยลงได้ ซึ่งทำให้ผลของการเสริมฤทธิ์นั้นมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียว ดังที่กล่าวไว้ในงานวิจัยของ (Junio และคณะ., 2014) ที่กล่าวไว้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชหรือการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารประกอบมากกว่าหนึ่งสารมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้สารประกอบเพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญ จึงแสดงให้เห็นว่าการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะอาจเป็นแนวทางที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ในอนาคต โดยสามารถที่จะช่วยส่งผลทำให้เพิ่มความประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาปฏิชีวนะ รวมถึงลดระยะเวลาในการรักษาลงได้ ดังงานวิจัยของ (Cheesman และคณะ, 2017) ที่กล่าวว่าปฏิสัมพันธ์ของการเสริมฤทธิ์นั้นอาจจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้มากขึ้น และรวมถึงการช่วยลดผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นได้ และงานวิจัยของ (Chanda และ Rakholiya, 2011) ที่กล่าวว่าการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของยาปฏิชีวนะได้มากขึ้น และช่วยลดระยะเวลาในการรักษาลงได้

เอกสารอ้างอิง

นิธิมา สุ่มประดิษฐ์, ศิริตรี สุทธจิตต์, สิตานันท์ พูลผลทรัพย์, รุ่งทิพย์ ชวนชื่น และ ภูษิต ประคองสาย 2558. ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลินทรีย์ในประเทศไทย.

นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553. เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก, วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวรปี 2553, 18 (1), 1-9.

วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์, พัชรี กัมมารเจษฎากุล และ อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, 2559. ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพร ไทย 10 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus ATCC25923, Bacillus cereus และ Escherichia coli ATCC25922

วารี เนื่องจำนงค์ และ วิสาตรี คงเจริญสุนทร, 2560. การเสริมฤทธิ์ของ Lupeol จากไคร้ (Glochidion daltonii Kurz) ร่วมกับยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาส, วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 45 (1), 83-94

สมใจ นครชัย, สุภาภรณ์ พงศกร และ อโนชา อุทัยพัฒน์, 2532. เภสัชวิทยาเล่ม 2.

สาตรี คงเจริญสุนทร, ณัฐกานต์ ถาแก้ว, นันทวัน ชนะภัย, สุพาภร ส่งสกุล และ เอกชัย บุดดา, 2554. ผลการเสริมฤทธิ์กันของสารสกัดทองพันชั่งกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยา, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 16 (1), 56-68

Aghraz, A., Benameur, Q., Gervasi, T., Ait Dra, L., Ben-Mahdi, M., Larhsini, M., Markouk, M. & Cicero, N. (2018) Antibacterial activity of *Cladanthus arabicus* and *Bubonium imbricatum* essential oils alone and in combination with conventional antibiotics against Enterobacteriaceae isolates. *Letters in applied microbiology,* 67 (2), 175-182.

Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J. C. & Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology,* 45 (4_ts), 493-496.

Benkeblia, N. (2004) Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT-food science and technology,* 37 (2), 263-268.

Betoni, J. E., Mantovani, R. P., Barbosa, L. N., Stasi, L. C. & Junior, A. F. (2006) Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101 (4), 387-390

Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D. & Yadav, A. (2013) Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Int J Microbiol,* 2013, 746165.

Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O. & Piddock, L. J. (2015) Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology,* 13 (1), 42.

Chanda, S. & Rakholiya, K. (2011) Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 1 (13), 520-529.

Cheesman, M. J., Ilanko, A., Blonk, B. & Cock, I. E. (2017) Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/ Compounds with Conventional Antibiotics the Solution**.** *Pharmacognosy Reviews*, 11 (22), 57-72.

Chukwujekwu, J. C. & van Staden, J. (2016) *In vitro* antibacterial activity of Combretum edwardsii, Combretum krausii, and Maytenus nemorosa and their synergistic effects in combination with antibiotics. *Frontiers in Pharmacology,* 7**,** 208.

Clatworthy, A. E., Pierson, E. & Hung, D. T. (2007) Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat Chem Biol,* 3 (9)**,** 541-548.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2016) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty sixth Informational Supplement document M100S Wayne, PA, USA.

Cunha, B. A. (2001) Antibiotic side effects. *Medical Clinics of North America,* 85 (1)**,** 149-185.

Davies, J. (1994) Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science,* 264 (5157)**,** 375-382.

Didry, N., Dubreuil, L., & Pinkas, M. (1993) Microbiological Properties of Protoanemonin Isolated from *Ranunculus bulbosus*. *Phytotherapy research*, 7, 21-24

Elhidar, N., Nafis, A., Kasrati, A., Goehler, A., Bohnert, J. A., Abbad, A., Hassani, L. & Mezrioui, N.-E. (2019) Chemical composition, antimicrobial activities and synergistic effects of essential oil from Senecio anteuphorbium, a Moroccan endemic plant. *Industrial Crops and Products,* 130**,** 310-315.

Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R. & Banat, I. M. (2016) Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology letters,* 38 (6)**,** 1015-1019.

Fadli, M., Saad, A., Sayadi, S., Chevalier, J., Mezrioui, N.-E., Pagès, J.-M. & Hassani, L. (2012) Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection–bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine,* 19 (5), 464-471.

Fair, R. J. & Tor, Y. (2014) Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry,* 6, PMC. S14459.

Fernández, L. & Hancock, R. E. (2012) Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical microbiology reviews,* 25 (4), 661-681.

Hayashi, M. A., Bizerra, F. C. & Junior, P. I. D. S. (2014) *Antimicrobial compounds from natural sources*. Frontiers E-books.

Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K. & Doble, M. (2008) Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine,* 15 (8), 639-652.

Jaafar, F. M., Osman, C. P., Ismail N. H., & Awang, K. (2007) Analysis of essential oils of leaves, stem, flowers and rhizomes of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. SMITH. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences,* 11 (1), 256-273

Jouda, M. M., Elbasshiti, T., Masad, A., & Albayomi, M. (2015) The antibacterial effect of some medicinal plant extracts and their synergistic effect with antibiotics. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5 (2), 23-33

Junio, H. A., Sy-Cordero, A. A., Ettefagh, K. A., Burns, J. T., Micko, K. T., Graf, T. N., Richter, S. J., Cannon, R. E., Oberlies, N. H. & Cech, N. B. (2011) Synergy-directed fractionation of botanical medicines: a case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *Journal of natural products,* 74 (7), 1621-1629.

Kapoor, G., Saigal, S. & Elongavan, A. (2017) Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology,* 33 (3), 300.

Kim, K. J., Yu, H. H., Cha, J. D., Seo, S. J., Choi, N. Y. & You, Y. O. (2005) Antibacterial activity of *Curcuma longa* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytother Res,* 19 (7), 599-604.

Korzybski, T., Kowszyk-Gindifer, Z. & Kurylowicz, W. (2013) *Antibiotics: origin, nature and properties*. Elsevier.

Lorian, V. (2005) *Antibiotics in laboratory medicine*. Lippincott Williams & Wilkins.

Mahesh, B., & Satish, S., (2008) Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences,* 4, 839-843

McFarland, J. (1907) The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association,* 49 (14), 1176-1178.

Munita, J. M. & Arias, C. A. (2016) Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology spectrum,* 4 (2).

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R. & Feo, V. (2017) Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals (Basel),* 10 (4).

Norajit, K., Laohakunjit, N., & Kerdchoechuen, O. (2007) Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils. *Molecules,* 12 (8), 2047-2060

Paterson, D. L. (2006) Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *American journal of infection control,* 34 (5), S20-S28.

Rasoanaivo, P., Wright, C. W., Willcox, M. L. & Gilbert, B. (2011) Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interactions. *Malaria journal,* 10 (1), S4.

Sarikurkcu, C., Sabih Ozer, M., Cakir, A., Eskici, M. & Mete, E. (2013) GC/MS Evaluation and *In Vitro* Antioxidant Activity of Essential Oil and Solvent Extracts of an Endemic Plant Used as Folk Remedy in Turkey: Phlomis bourgaei Boiss. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 2013.

Schwalbe, R., Steele-Moore, L. & Goodwin, A. C. (2007) *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. Crc Press.

Sen, A., & Batra, A. (2012) Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant : *Melia azedarach* L. *International Journal of Current Pharmaceutical Research,* 4 (2), 67-73

Stefanović, O. & Comic, L. (2012) Synergistic antibacterial interaction between Melissa officinalis extracts and antibiotics. *Journal of Applied Pharmaceutical Science,* 2 (1), 1-5.

van Hoek, A. H., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P. & Aarts, H. J. (2011) Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in microbiology,* 2, 203.

Viljoen, A., Subramoney, S. v., Van Vuuren, S., Başer, K. & Demirci, B. (2005) The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) leaf essential oils. *Journal of ethnopharmacology,* 96 (1-2), 271-277.

Walsh, C. (2003) *Antibiotics: actions, origins, resistance*. American Society for Microbiology (ASM).

Wang, S. Y., Sun, Z. L., Liu, T., Gibbons, S., Zhang, W. J. & Qing, M. (2014) Flavonoids from Sophora moorcroftiana and their synergistic antibacterial effects on MRSA. *Phytotherapy research,* 28 (7), 1071-1076.

Wannissorn, B., Maneesin, P., Tubtimted, S. & Wangchanachai, G. (2009) Antimicrobial activity of essential oils extracted from Thai herbs and spices. *Asian Journal of Food and Agro-Industry,* 2 (4), 677-689.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 50% Tryptic soy agar

Peptone from casein	0.85%
Peptone from soymeal	0.15%
D (+) glucose	0.125%
Sodium chloride	0.25%
Di-potassium hydrogen phosphate	0.125%
Agar	1.8%

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Tryptic soy broth 15 กรัม และผงวุ้น 18 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 50% Tryptic soy agar

Peptone from casein	0.85%
Peptone from soymeal	0.15%
D (+) glucose	0.125%
Sodium chloride	0.25%
Di-potassium hydrogen phosphate	0.125%

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Tryptic soy broth 15 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. 0.5 Mcfarland standard

Barium chloride	1%
Sulfuric acid	1%

วิธีการเตรียม

เติม 1% barium chloride 0.05 มิลลิลิตร ผสมกับ 1% Sulfuric acid 9.95 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ควรจะได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ระหว่าง 0.08-0.1

2. เรซาซูริน (resazurin) 0.015%

วิธีการเตรียม

ชั่งสีเรซาซูริน 3 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วจนสีละลาย นำมากรองด้วยหัวกรองสำเร็จขนาด 0.45 ไมโครเมตร และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 10 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253

การทดสอบ	พืช(ตัวทำละลาย) +ยาปฏิชีวนะ	MIC		FICI	ผลที่ได้
		สารเดี่ยว	สารรวม		
ขมิ้นชัน (Ace) + Strep	ขมิ้นชัน (Ace)	6.25	3.12	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Strep	6.25	0.39		
ขมิ้นชัน (Ace) + Kana	ขมิ้นชัน (Ace)	6.25	3.12	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	6.25	0.39		
ขมิ้นชัน (Ace) + Amp	ขมิ้นชัน (Ace)	6.25	3.12	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.78	0.05		
ขมิ้นชัน (Ace) + Cipro	ขมิ้นชัน (Ace)	6.25	3.12	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	1.56	0.78		
ชัวยิ้ง (Ace) + Strep	ชัวยิ้ง (Ace)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.78		
ชัวยิ้ง (Ace) + Kana	ชัวยิ้ง (Ace)	12.5	6.25	0.56	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	6.25	0.39		
ชัวยิ้ง (Ace) + Amp	ชัวยิ้ง (Ace)	12.5	6.25	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.78	0.39		
ชัวยิ้ง (Ace) + Cipro	ชัวยิ้ง (Ace)	12.5	25	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	1.56	0.78		
สีเสียดเทศ (Ace) + Strep	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.78		
สีเสียดเทศ (Ace) + Kana	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Kana	6.25	0.78		
สีเสียดเทศ (Ace) + Amp	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.78	0.20		
สีเสียดเทศ (Ace) + Cipro	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	3.12	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	1.56	1.56		

ตารางที่ 10 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *L. monocytogenes* MSCU0253 (ต่อ)

การทดสอบ	พืช(ตัวทำละลาย) +ยาปฏิชีวนะ	MIC		FICI	ผลที่ได้
		สารเดี่ยว	สารรวม		
สีเสียดเทศ (Met) + Strep	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	6.25	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	3.12		
สีเสียดเทศ (Met) + Kana	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	6.25	3.12		
สีเสียดเทศ (Met) + Amp	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.78	0.39		
สีเสียดเทศ (Met) + Cipro	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	>2.00	ต้านฤทธิ์
	Cipro	1.56	3.13		

หมายเหตุ: MIC ของสารสกัดจากพืชมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

MIC ของยาปฏิชีวนะมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน,

0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์ (Didry และคณะ., 1993)

ตารางที่ 11 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353

การทดสอบ	พืช(ตัวทำละลาย) +ยาปฏิชีวนะ	MIC		FICI	ผลที่ได้
		สารเดี่ยว	สารรวม		
ชังตุ๊ก (Met) + Strep	ชังตุ๊ก (Met)	12.5	0.78	0.19	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.78		
ชังตุ๊ก (Met) + Kana	ชังตุ๊ก (Met)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Kana	3.12	0.39		
ชังตุ๊ก (Met) + Amp	ชังตุ๊ก (Met)	12.5	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.20	0.05		
ชังตุ๊ก (Met) + Cipro	ชังตุ๊ก (Met)	12.5	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Cipro	0.39	0.10		
ขมิ้นชัน (Ace)+ Strep	ขมิ้นชัน (Ace)	3.12	1.56	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Strep	6.25	1.56		
ขมิ้นชัน (Ace) + Kana	ขมิ้นชัน (Ace)	3.12	0.78	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	3.12	1.56		
ขมิ้นชัน (Ace) + Amp	ขมิ้นชัน (Ace)	3.12	3.12	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.20	0.10		
ขมิ้นชัน (Ace) + Cipro	ขมิ้นชัน (Ace)	3.12	6.25	>2.00	ต้านฤทธิ์
	Cipro	0.39	0.02		
ขมิ้นชัน (Met) + Strep	ขมิ้นชัน (Met)	0.78	0.20	0.31	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.39		
ขมิ้นชัน (Met) + Kana	ขมิ้นชัน (Met)	0.78	0.20	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	3.12	1.56		
ขมิ้นชัน (Met) + Amp	ขมิ้นชัน (Met)	0.78	0.39	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.20	0.20		
ขมิ้นชัน (Met) + Cipro	ขมิ้นชัน (Met)	0.78	0.78	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.39	0.02		
ชัวยิ้ง (Ace) + Strep	ชัวยิ้ง (Ace)	6.25	1.56	0.50	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	1.56		

ตารางที่ 11 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญต่อ *S. aureus* MSCU0353 (ต่อ)

การทดสอบ	พืช(ตัวทำละลาย) +ยาปฏิชีวนะ	MIC		FICI	ผลที่ได้
		สารเดี่ยว	สารรวม		
ซัวยิ้ง (Ace) + Kana	ซัวยิ้ง (Ace)	6.25	3.12	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	3.12	0.78		
ซัวยิ้ง (Ace) + Amp	ซัวยิ้ง (Ace)	6.25	6.25	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.20	0.01		
ซัวยิ้ง (Ace) + Cipro	ซัวยิ้ง (Ace)	6.25	6.25	1.13	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.39	0.05		
สีเสียดเทศ (Ace) + Strep	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.78		
สีเสียดเทศ (Ace) + Kana	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	6.25	0.63	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Kana	3.12	0.39		
สีเสียดเทศ (Ace) + Amp	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	6.25	0.63	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.20	0.02		
สีเสียดเทศ (Ace) + Cipro	สีเสียดเทศ (Ace)	12.5	6.25	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.39	0.20		
สีเสียดเทศ (Met) + Strep	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	0.38	เสริมฤทธิ์
	Strep	6.25	0.78		
สีเสียดเทศ (Met) + Kana	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	0.50	เสริมฤทธิ์
	Kana	3.12	0.78		
สีเสียดเทศ (Met) + Amp	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	3.12	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.20	0.20		
สีเสียดเทศ (Met) + Cipro	สีเสียดเทศ (Met)	12.5	12.5	>2.00	ต้านฤทธิ์
	Cipro	0.39	0.39		

หมายเหตุ: MIC ของสารสกัดจากพืชมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

MIC ของยาปฏิชีวนะมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน,

0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์ (Didry และคณะ., 1993)