ประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*

Antimicrobial Activity of Curcuminoids Against *Staphylococcus aureus*

เยาวลักษณ์ บานเพียน (Yaowalak Banpian)[1]
พรรนิภา ศิริเพิ่มพูล (Punnipa Siripermpool)[2]*

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* จำนวน 45 isolates ซึ่งประกอบด้วย *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Methicillin (Methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) จำนวน 20 isolates และสายพันธุ์ที่ไวต่อยา Methicillin (Methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) จำนวน 25 isolates ด้วยวิธี Agar dilution พบว่าเคอร์คูมินอยด์สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้โดยมีค่า MIC_{90} เท่ากัน คือ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์รวมกับยาปฏิชีวนะ พบว่าฤทธิ์รวมระหว่างเคอร์คูมินอยด์กับยา Tetracycline เมื่อทดสอบกับ MRSA และ MSSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากฤทธิ์เดิม (Indifference) ส่วนฤทธิ์รวมระหว่างเคอร์คูมินอยด์กับยา Gentamicin เมื่อทดสอบกับ MRSA เป็นแบบ Indifference แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA มีฤทธิ์แบบเสริมกัน (Synergism) แสดงว่าเคอร์คูมินอยด์ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้และสามารถเสริมฤทธิ์กับยา Gentamicin ในการยับยั้งการเจริญของ MSSA บางสายพันธุ์

Abstract

The antibacterial activity of curcuminoids was tested against 45 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (20 isolates of methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA and 25 isolates of methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) by agar dilution method. The curcuminoids showed inhibitory effect against the MRSA and MSSA with the same level of MIC_{90} (62.5 µg/ml). The combination of tetracycline or gentamicin with curcuminoids was also investigated. The results indicated that the activity of the combination was indifferent against MRSA and MSSA. Although the combination effect aginst MSSA of gentamicin and curcuminoids was indifferent against MRSA, the combination effect was synergism effect against MSSA. From the result of this study, the curcuminoids possesses anti-staphylococcal activity and curcuminoids-gentamicin exhibits synergism against some strains of MSSA.

คำสำคัญ: เคอร์คูมินอยด์ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Keywords: Curcuminoids, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

[1]*นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2]*รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

**corresponding author, e-mail: punpool@yahoo.com*

บทนำ

Staphylococcus aureus ชนิดที่ดื้อยาโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เรียกว่า Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญทางการแพทย์ของหลายประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยด้วย (Barakate et al., 2000; Chang et al., 1997; Corea, 2003; Hsueh, 2005; Kobayashi, 2005) เนื่องจากเชื้อสามารถพัฒนาให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะหลาย ๆ ชนิดที่ใช้รักษาได้พร้อมกัน (Petinaki et al., 2001) ทำให้มนุษย์ต้องแสวงหายาใหม่ ๆ สำหรับใช้รักษาโรคติดเชื้อชนิดนี้ และด้วยวิธีการสมัยใหม่ทางด้านจุลชีววิทยาทำให้ทราบว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดมีสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรคในมนุษย์ได้ (Darwish et al., 2002)

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งซึ่งตามตำราแพทย์แผนโบราณของไทยใช้เป็นยาภายนอก แก้อาการผื่นคันตามผิวหนัง รักษาแผลสด แผลพุพอง ฝี หนอง เนื่องจากในขมิ้นชันมีสารสำคัญ คือ Curcuminoids ซึ่งประกอบด้วยสาร Curcumin และอนุพันธ์ของมัน สารดังกล่าวนี้มีฤทธิ์ลดการอักเสบและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (สมพร, 2542) ดังนั้น anti-MRSA compounds จากพืชในธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่อาจนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ Curcuminoids ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ทั้งชนิดที่ดื้อยา Methicillin (MRSA) และชนิดที่ไวยา Methicillin (Methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) และทดสอบฤทธิ์รวมระหว่าง Curcuminoids กับยา Tetracycline และ Gentamicin ซึ่งเป็นยาที่มีราคาไม่แพงและในอดีตเคยเป็นยาที่ใช้รักษาเชื้อนี้ได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำ Curcuminoids ไปใช้พัฒนาเป็นยารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus*

ระเบียบวิธีวิจัย

1. เชื้อที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) จำนวน 20 isolates (ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา ชลบุรี); Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) จำนวน 25 isolates (ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา ชลบุรี) และ S. *aureus* ATCC 29213 จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

2. สารทดสอบ ได้แก่ Curcuminoids ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากองค์การเภสัชกรรม กรุงเทพฯ; Gentamicin (Liwinner Pharmaceutical Ltd., ประเทศไทย) และ Tetracycline (Sigma@)

3. การตรวจหาการดื้อยา Methicillin ของ *S. aureus* โดยวิธี Disc diffusion (Forbes et al., 2002)

ทดสอบโดยเขี่ยเชื้อจาก Nutrient agar ประมาณ 4-5 โคโลนีใส่ลงใน Tryptic soy broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 โดยการวัดด้วยเครื่องวัดความขุ่น จากนั้นใช้ Sterile swab จุ่มเชื้อป้ายลงบน Mueller-Hinton agar (MHA) และวาง Oxacillin disc 1 ไมโครกรัม ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วัดขนาดของ Inhibition zone ที่เกิดขึ้น หากขนาดของ Inhibition zone น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร แสดงว่าเป็นเชื้อ MRSA

4. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ Tetracycline และ Gentamicin โดยวิธี Agar dilution (Hausler et al., 1991) โดยการเตรียม Mueller-Hinton agar (MHA) ผสมยาปฏิชีวนะ Gentamicin หรือ Tetracycline (อัตราส่วนยาปฏิชีวนะ:MHA เท่ากับ 1:19) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.062 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเตรียม Control plate ซึ่งได้แก่ MHA ที่ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ จากนั้น Spot

เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ ความเข้มข้นของเชื้อในแต่ละจุดประมาณ 10^4 เซลล์ และทดสอบเชื้อควบคุมโดยการ Spot *S. aureus* ATCC 29213 ลงบนอาหาร MHA ที่ผสมยา Gentamicin ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.062 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำจานอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ)

5. การทดสอบความไวของเชื้อต่อสาร Curcuminoids โดยวิธี Agar dilution (Hausler et al.,1991) โดยการเตรียม MHA ที่ผสม Curcuminoids ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 300, 250, 200, 150, 125, 100, 75, 62.5, 50, 37.5, 31.25 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเตรียม Control plate ซึ่งประกอบด้วย Positive control plate (MHA ที่ไม่ผสมสารละลาย Curcuminoids) และ Negative control plate (MHA ปริมาตร 19 มิลลิลิตร ผสม DMSO 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร) จากนั้น Spot เชื้อทดสอบลงบนอาหารทั้งหมดที่เตรียมไว้ และ Spot เชื้อมาตรฐาน *S. aureus* ATCC 29213 ลงบนอาหาร MHA ที่ผสมยา Gentamicin ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.062 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บ่มอาหารทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของ Curcuminoids ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของ Curcuminoids รวมกับยาปฏิชีวนะโดยวิธี Checkerboard dilution (Climo, 1999) โดยการเจือจางยาปฏิชีวนะ Gentamicin หรือ Tetracycline ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แบบ Serial two-fold dilution ใน 96-well Microtiter plate ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 8xMIC จนถึง 1/4xMIC แล้วเติม Curcuminoids ความเข้มข้นตั้งแต่ 8xMIC จนถึง 1/4xMIC ลงไป จากนั้นเติมเชื้อทดสอบ 100 ไมโครลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายของเชื้อประมาณ 10^5 CFU/มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาและ Curcuminoids ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้

ผลการวิจัย

1. การดื้อยา Methicillin ของ *S. aureus*

จากการทดสอบการดื้อยา Methicillin ของ *S. aureus* โดยวิธี Disc diffusion พบว่า MRSA ทุก isolate ไม่เกิด Inhibition zone กับ Oxacillin disc 1 ไมโครกรัม ส่วน MSSA เกิด Inhibition zone โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแตกต่างกันตั้งแต่ 12-26 มิลลิเมตร

2. ความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะและ Curcuminoids

จากการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Agar dilution พบว่า MRSA และ MSSA มีค่า MIC_{90} ต่อยา Tetracycline เท่ากัน คือ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน MIC_{90} ต่อยา Gentamicin ของเชื้อ MSSA มีค่าเท่ากับ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ MIC_{90} ของเชื้อ MRSA มีค่ามากกว่า 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อ MRSA และ MSSA ทั้งหมด (ยกเว้น MSSA จำนวน 2 isolates) มีค่า MIC ต่อ Curcuminoids เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (รูปที่ 1) ทั้งนี้ *S. aureus* ATCC 29213 มีค่า MIC ต่อ Curcuminoids เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เช่นเดียวกัน

3. ประสิทธิภาพของ Curcuminoids รวมกับยาปฏิชีวนะ

เมื่อนำยา Tetracycline ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันมารวมกับ Curcuminoids แล้วทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่าทั้งในกรณีของ MRSA และ MSSA ต้องใช้ Curcuminoids เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ซึ่งเท่ากับค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบแบบยาเดี่ยว) จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ตารางที่ 1)

ยกเว้น MRSA หมายเลข 08 ที่เมื่อใช้ Tetracycline ความเข้มข้นเท่ากับ $^1/_2$ MIC รวมกับ Curcuminoids 31.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (เท่ากับ $^1/_2$ MIC ของ Curcuminoids) ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์รวมระหว่าง Curcuminoids กับยา Tetracycline เป็นแบบ Indifference แต่เมื่อนำยา Gentamicin มาทดสอบฤทธิ์รวมกับ Curcuminoids ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน พบว่าในกรณีของ MRSA ให้ผลเช่นเดียวกับ Tetracycline กล่าวคือฤทธิ์ของยากับ Curcuminoids เป็นแบบ Indifference แต่ในกรณีของ *S. aureus* ATCC 29213 ซึ่งเป็นเชื้อ MSSA นั้นพบว่าเมื่อนำ Gentamicin ในระดับความเข้มข้นเท่ากับ $^1/_2$ MIC และ $^1/_4$ MIC มารวมกับ Curcuminoids ต้องใช้ Curcuminoids เพียง 1.95 และ 15.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เท่านั้นก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ตารางที่ 2) แสดงว่าฤทธิ์รวมระหว่าง Gentamicin กับ Curcuminoids เป็นแบบ Synergism

อภิปรายผลการวิจัย

จากการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะและ Curcuminoids พบว่าเชื้อ MRSA และ MSSA มีค่า MIC_{90} ต่อยา Tetracycline เท่ากัน คือ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน MIC_{90} ต่อยา Gentamicin ของเชื้อ MSSA มีค่าเท่ากับ 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ MIC_{90} ของเชื้อ MRSA มีค่ามากกว่า 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงว่าเชื้อ MRSA ที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้เป็นเชื้อที่ดื้อยา Tetracycline และ Gentamicin เนื่องจาก *S. aureus* ที่ดื้อยา Tetracycline และ Gentamicin นั้นจะต้องมีค่า MIC ต่อยาทั้งสองนี้มากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Murray et al., 2003) สำหรับการทดสอบความไวของ Curcuminoids นั้นพบว่า Curcuminoids ความเข้มข้นเท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้ทุกสายพันธุ์ (ยกเว้น MSSA 2 สายพันธุ์) Curcuminoids ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีส่วนประกอบของสารสำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ Curcumin, demethoxycurcumin และ bis-demethoxycurcumin ซึ่งสาร Curcumin นั้นมีรายงานว่ามีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราได้ (Lewis and Elvin-Lewis., 2003)

จากรายงานของ Apisariyakul et al. (2003) พบว่าสาร Curcumin สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ส่วน Kim et al. (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันด้วย Ethyl acetate, Methanol และน้ำ ในการต้านการเจริญของ MRSA พบว่าสารที่สกัดจากขมิ้นชันโดยการใช้ Ethyl acetate มีประสิทธิภาพมากกว่าสารที่สกัดได้จากการใช้ Methanol และน้ำ เมื่อนำสารที่สกัดได้ด้วยวิธีที่แตกต่างกันเหล่านี้ในปริมาณความเข้มข้นตั้งแต่ 0.125-2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาทดสอบความสามารถในการคืนฤทธิ์ต้านจุลชีพของยากลุ่ม β-lactams และฤทธิ์ต้านการบุกรุกเซลล์เพาะเลี้ยงประเภท Fibroblast พบว่าสารที่สกัดจากขมิ้นโดยการใช้ Ethyl acetate นั้นสามารถลดการบุกรุกเซลล์ของเชื้อ MRSA ได้ และสามารถลดค่า MIC ของ Ampicillin และ Oxacillin ลงได้ด้วย แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า MIC ของ Curcuminoids นั้นมีค่าเท่ากับ 0.0625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าค่าที่ได้จากการศึกษาของ Apisariyakul et al. (2003) ถึง 4 เท่า (0.0625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) แสดงว่า Curcuminoids จากขมิ้นชันที่นำมาศึกษาครั้งนี้มีประสิทธิภาพดีกว่าสาร Curcumin ทั้งนี้อาจเนื่องจากประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อนั้นเกิดขึ้นจากความสามารถโดยรวมของสารประกอบทั้งสามที่มีอยู่ในสาร Curcuminoids มากกว่าที่จะเกิดจากความสามารถของ Curcumin เพียงอย่างเดียว

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของ Curcuminoids จากขมิ้นชันรวมกับยาปฏิชีวนะ Tetracycline และ Gentamicin ด้วยวิธี Checkerboard dilution พบว่าฤทธิ์

รวมระหว่าง Curcuminoid กับยา Tetracycline เป็นแบบไม่แตกต่างไปจากการใช้ Curcuminoids หรือ Tetracycline แบบยาเดี่ยว (Indifference) ในการยับยั้งเชื้อ MRSA และ MSSA เนื่องจากค่า MIC ของ Curcuminoid เมื่อทดสอบรวมกับ Tetracycline เข้มข้น $^{1}/_{2}$ MIC และ $^{1}/_{4}$ MIC มีค่าเท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งไม่แตกต่างจากค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบแบบยาเดี่ยวหรือแตกต่างไม่เกิน 4 เท่า ส่วนฤทธิ์รวมระหว่าง Curcuminoids กับ Gentamicin เมื่อทดสอบกับ MRSA มีฤทธิ์เป็นแบบ Indifference ในการยับยั้งเชื้อ MRSA แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA พบว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน (Synergism) เนื่องจากค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบรวมกับ Gentamicin เข้มข้น $^{1}/_{2}$ MIC มีค่าเท่ากับ 1.95 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบแบบยาเดี่ยวถึง 32 เท่า (1.95 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์รวมของสารทดสอบทั้งสองชนิดจะเป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน (Synergism) เมื่อค่า MIC ของสารใดสารหนึ่งในการทดสอบฤทธิ์รวมมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ $^{1}/_{4}$ เท่าของค่า MIC ของสารนั้นเมื่อทดสอบเดี่ยว และหากค่า MIC ของสารใดสารหนึ่งในการทดสอบฤทธิ์รวมมีค่าไม่แตกต่างจากค่า MIC ของสารเมื่อทดสอบเดี่ยวหรือแตกต่างกันไม่เกิน 4 เท่า แสดงว่าสารทั้งสองนั้นมีฤทธิ์แบบไม่แตกต่างไปจากการใช้ แบบยาเดี่ยว (Indifference) (Climo et al., 1999)

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากขมิ้นชันมีประสิทธิภาพของในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ทั้งชนิดที่ดื้อยา Methicillin (MRSA) และที่ไวยา Methicillin (Methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) โดยมีค่า MIC_{90} เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ฤทธิ์รวมระหว่างสารสกัดจากขมิ้นชันกับ Tetracycline เมื่อทดสอบกับ MRSA และ MSSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากฤทธิ์เดิม (Indifference) ส่วนฤทธิ์รวมกับ Gentamicin เมื่อทดสอบกับ MRSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากฤทธิ์เดิม แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA เป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน (Synergism)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณองค์การเภสัชกรรมที่ให้ความอนุเคราะห์สาร Curcuminoids ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นและห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา ชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียสำหรับทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

สมพร ภูติยานันต์. 2542. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย: ว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์แผนไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์.

Apisariyakul, A., Siri-sa-ard, P., Kabsri, W., Boonchu, M., Krirojananan, M. and Pawichai, S. 2003. A pharmacological study of antibacterial activity of turmeric oil and curcumin isolated from *Curcuma longa* Linn., (Zingiberaceae) (Abstract). **The 3rd World congress on medicinal plant and aromatic plants for human welfare**, Chiang Mai, Thailand.

Barakate, M.S., Yang, S.H., Vickery, A.M., Sharp, C.A., Fowler, L.D., Harris, J.P., West, R.H., Macleod, C. and Benn, R.A. 2000. An epidemiological survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary referral hospital. **J Hosp Infect** 44(1): 19-26.

Chang, S-C., Sun C.C., Yang, L.S., Luh, K.T. and Hsieh, W.C. 1997. Increasing nosocomial infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a teaching hospital in Taiwan. **Int J Antimicrob Agents** 8(2): 109-114.

Climo, M.W., Patron, R.L. and Archer, G.L. 1999. Combinations of vancomycin and β-lactams are synergistic against Staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin. **Antimicrob Agents Chemother** 43(7): 1747-1753.

Corea, E., de Silva, T. and Perera, J. 2003. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: prevalence, incidence and risk factors associated with colonization in Sri Lanka. **J Hosp Infect** 55(2): 145-148.

Darwish, R.M., Aburjai, T., Al-Khalil, S. and Mahafzah, A. 2002. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. **J Ethnopharmacol** 79(3): 359-364.

Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. 2002. **Bailey & Scott's diagnostic microbiology**. 11th ed. Missouri: An Imprint of Elsevier Science.

Hausler, W.J., Herrmann, K.L. and Isenberg, H.D. 1991. **Manual of clinical microbiology**. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.

Hsueh, P.R., Chen, W.H., Teng, L.J. and Luh, K.T. 2005. Nosocomial infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci at a university hospital in Taiwan from 1991 to 2003: resistance trends, antibiotic usage and in vitro activities of newer antimicrobial agents. **Int J Antimicrob Agents** 26(1): 43-49.

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

Kobayashi, H. 2005. National hospital infection surveillance on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J Hosp Infect** 60(2): 172-175.

Lewis, W.H. and Elvin-Lewis, M.F. 2003. **Medical botany: Plants Affecting Human Health**. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Son, Inc.

Murray, P.R., Baron, E., Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A. and Yolken, R.H. 2003. **Manual of clinical microbiology**. 8th ed. Washington, DC: ASM Press.

Petinaki, E., Miriagoub, V., Tzouvelekisc, L.S., Pournarasa, S., Hatzia, F., Kontosa, F., Maniatia, M. and Maniatis, A.N. 2001. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the hospitals of central Greece. **Int J Antimicrob Agents** 18(1): 61-65.

ตารางที่ 1 ค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบรวมกับ Tetracycline ความเข้มข้นต่าง ๆ

เชื้อทดสอบ	ค่า MIC ของ Curcuminoids (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อทดสอบรวมกับ Tetracycline	
	$^1/_2$ MIC	$^1/_4$ MIC
MRSA 03	62.5	62.5
MRSA 08	31.25	62.5
MSSA 03	62.5	62.5

ตารางที่ 2 ค่า MIC ของ Curcuminoids เมื่อทดสอบรวมกับ Gentamicin ความเข้มข้นต่าง ๆ

เชื้อทดสอบ	ค่า MIC ของ Curcuminoids (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อทดสอบรวมกับ Gentamicin	
	$^1/_2$ MIC	$^1/_4$ MIC
MRSA 09	62.5	62.5
S. aureus ATCC 29213	1.95	15.62

รูปที่ 1 เปรียบเทียบค่า MIC ของ Curcuminoids ระหว่างเชื้อ MRSA กับ MSSA (MIC_{90} = 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร; ค่าที่ได้เท่ากันในการทดสอบ 3 ซ้ำ)