ฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลินที่แยกได้จากโรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช

Synergistic Effect of Alpha-Mangostin and Gentamicin against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from King Narai Hospital

อุมาพร ทาไธสง* และ สิทธิเดช แสงนวล
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Umaporn Thathaisong* and Sittideth Sangnual
Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

ปัจจุบันทั่วโลกกำลังให้ความสนใจเกี่ยวกับฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *S. aureus* : MRSA) อย่างมาก การค้นคว้าหาสารชนิดใหม่หรือวิธีการใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว จึงมีความสำคัญยิ่งในการแก้ไขปัญหาการดื้อยาของเชื้อ การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบหาฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) ที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดกับยาเจนตามัยซิน (gentamicin) ในการยับยั้งการเจริญของ MRSA จำนวน 16 ไอโซเลท และ *Staphylococcus aureus* ที่ไวต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-susceptible *S. aureus* : MSSA) จำนวน 1 ไอโซเลท ผลการทดสอบพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration : MIC) ของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ มีค่าตั้งแต่ 6.25-12.5 μg/ml และ 0.25-256 μg/ml ตามลำดับ ค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม (fractional inhibitory concentration index : FICI) ของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซินต่อ MRSA ทุกไอโซเลท และ MSSA เท่ากับ 0.625-1.0 และ 0.5 ตามลำดับ การวิเคราะห์ฤทธิ์ร่วมกันของสารทั้งสองชนิดเมื่อเทียบกับสารเพียงชนิดเดียว พบว่าผลการยับยั้ง MRSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว และเมื่อทดสอบกับ MSSA พบว่ามีฤทธิ์แบบเสริมกัน ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปสู่การพัฒนาในการนำสารชนิดใหม่มาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อนำไปใช้รักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ MRSA ในอนาคต

คำสำคัญ : สารแอลฟาแมงโกสติน ยาเจนตามัยซิน *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน ดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม

***Corresponding author.** E-mail: umaporn@buu.ac.th

Abstract

The antimicrobial activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is becoming worldwide interest. Searching for new bioactive compounds or other approaches which will effectively inhibit these bacteria is therefore crucial for solving drug resistance. This study aimed to test synergistic effect of alpha-mangostin isolated from mangosteen pericarp and gentamicin against 16 isolates of MRSA and 1 isolate of MSSA (methicillin-susceptible *S. aureus*). The results showed that minimum inhibitory concentrations (MICs) of alpha-mangostin and gentamicin against all bacterial isolates were 6.26 to 12.5 μg/ml and 0.25 to 256 μg/ml, respectively. The fractional inhibitory concentration index (FICI) of alpha-mangostin/gentamicin combination against all MRSA isolates and MSSA isolate were 0.625 to 1.0 and 0.5, respectively. Synergistic analysis between combination and individual drug were at indifference for MRSA, however synergism was found in MSSA. The results obtained here could lead to the development of new combination of antimicrobial agent with antibiotic against MRSA infection in the future.

Keywords : alpha-mangostin, gentamicin, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, fractional inhibitory concentration index (FICI)

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีบทบาทสำคัญทางด้านการแพทย์เป็นอย่างมากซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่างๆ ของร่างกาย เช่น เยื่อบุโพรงหัวใจอักเสบ (endocarditis) โรคปอดอักเสบ (pneumonia) การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) อาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (toxic shock syndrome) และการติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) เป็นต้น (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549) นอกจากนี้ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถแพร่กระจายได้ง่ายและอาจพบเชื้อที่บริเวณโพรงจมูกประมาณร้อยละ 40-50 ของคนที่มีสุขภาพดี และยังพบได้ทั่วไปตามผิวหนังของมนุษย์ (Lee *et al*., 2008) *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการปรับตัวให้ดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้อย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนยังไม่มียาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจึงทำให้อัตราการตายจากการติดเชื้อ *S. aureus* ในกระแสเลือดสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2483 มีการนำยาเพนิซิลลิน จี มาใช้ในการรักษาจึงทำให้อัตราการตายจากการติดเชื้อ *S. aureus* ลดลงเป็นอย่างมากแต่ *S. aureus* เริ่มมีการปรับตัวให้สามารถดื้อต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทม เช่น เมธิซิลลิน มากขึ้นเรื่อยๆ และเรียก *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทมนี้ว่า methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (พรรณทิพย์ ฉายากุล, 2543) นอกจาก MRSA จะดื้อต่อยากลุ่มเบต้าแลคแทมแล้วยังมีรายงานพบว่าสามารถดื้อต่อยากลุ่มอื่นๆ ได้อีกด้วย เช่น เตตราไซคลิน, อะมิโนไกลโคไซด์, คลอแรมเฟนิคอล, ฟลูออโรควิโนโลน และแมคโครไลด์ (Sahin *et al*., 2003) ปัจจุบัน MRSA เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน ซึ่งพบได้ทั่วโลกเป็นเวลามากว่า 20 ปีแล้ว และมีอุบัติการณ์ที่สูงขึ้นเรื่อยๆ (Lowy, 1998) และพบว่า MRSA มีการพัฒนาและปรับตัวให้มีการดื้อยาหลายชนิดมากยิ่งขึ้นและทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่มีความรุนแรง ซึ่งเป็นปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสำคัญ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาค้นคว้าหาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่เพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อดังกล่าว

Garcinia mangostana หรือที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า มังคุด มีรายงานพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* Typhimurium, *Enterococcus* spp., *Mycobacterium tuberculosis* และ *Propionibacterium acnes* ได้ (Torrungruang *et al*., 2007) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ (Pothitirat & Gritsanapan, 2008) จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกผลมังคุดพบว่าส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มแซนโทน ตัวอย่างเช่น แอลฟา-แมงโกสติน เบต้าแมงโกสติน และแกมมาแมงโกสติน การ์ทินิน ไอโซแมงโกสติน เป็นต้น (Mahabusarakam *et al*., 1987) ซึ่งมีรายงานว่าสารแอลฟาแมงโกสตินมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ดีที่สุด (Torrungruang *et al*., 2007)

การใช้สารสกัดจากธรรมชาติถือเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อและสามารถนำไปประยุกต์ใช้โดยร่วมกับยาต้านจุลชีพบางชนิดเพื่อเป็นการเสริมฤทธิ์กัน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟา-แมงโกสตินที่สกัดได้จากเปลือกผลมังคุดกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน ซึ่งยาเจนตามัยซินเป็นยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ที่มีราคาถูกและในอดีตเคยใช้รักษาเชื้อนี้ได้ เพื่อที่จะเป็นแนวทางในการนำสารสกัดดังกล่าวนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรค หรือนำไปใช้ร่วมกับยาที่เคยใช้รักษา *S. aureus* ได้และมีราคาถูก เพื่อใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อที่มีอัตราการดื้อยาสูงต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. เชื้อที่ใช้ทดสอบ

ได้แก่ *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ในโรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช จังหวัดลพบุรี จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งได้ทำการทดสอบยืนยันการดื้อยาเมธิซิลลิน ด้วยวิธี Disc diffusion โดยวาง oxacillin disc 1 μg ลงบนจานเพาะเชื้อทดสอบแต่ละไอโซเลท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดของ inhibition zone ซึ่ง MRSA ไม่เกิด inhibition zone กับ oxacillin disc 1 μg ส่วน MSSA เกิด inhibition zone ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 12-26 มิลลิเมตร

2. การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาเจนตามัยซิน โดยวิธี agar dilution (Hausler *et al*., 1991)

2.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

เพาะเชื้อทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวประมาณ 4-6 โคโลนี ใส่ลงใน Tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเทียบความขุ่นให้เท่ากับ McFarland standard เบอร์ 0.5 (มีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 cfu/ml) แล้วนำมาเจือจางด้วย 0.85% Normal Saline

Solution (NSS) ให้ได้จำนวนเชื้อโดยปริมาณเท่ากับ 1.0 x 10^6 cfu/ml

2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารทดสอบ

เจือจางยาเจนตามัยซินและสารแอลฟาแมงโกสตินด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อแบบ two-fold dilution ผสมสารทดสอบแต่ละความเข้มข้นกับ Mueller-Hinton agar หลอมเหลวในอัตราส่วน 1 : 19 ml จากนั้นเทลงบนจานเพาะเชื้อจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาเจนตามัยซินเท่ากับ 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 µg/ml ส่วนสารแอลฟาแมงโกสตินเท่ากับ 2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 µg/ml

2.3 วิธีการทดสอบ

หยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 µl (1.0 x 10^4 cfu/หยด) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซิน โดยวิธี checkerboard agar dilution (Lorian, 2005)

3.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

กระทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ให้ได้จำนวนเชื้อโดยประมาณเท่ากับ 1.0 x 10^6 cfu/ml

3.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซิน

ผสมสารผสมระหว่างสารแอลฟาแมงโกสตินและยาเจนตามัยซิน ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารแต่ละตัวตั้งแต่ 2×MIC ถึง 1/8×MIC โดยอัตราส่วนของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อยาเจนตามัยซินและ Mueller-Hinton agar เท่ากับ 1 : 1 : 18 โดยมีปริมาตรรวมเท่ากับ 20 ml และเตรียม negative control โดยผสม 80% เอทานอล กับ Mueller-Hinton agar ในอัตราส่วน 1 : 19 ml

3.3 วิธีการทดสอบ

หยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ในปริมาตร 10 µl (1.0 x 10^4 cfu/หยด) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC)

3.4 ประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของสารแอลฟา-แมงโกสตินและยาเจนตามัยซิน ด้วยดัชนีชี้วัดที่เรียกว่า fractional inhibitory concentration index (FICI) ดังสูตร

ค่า FICI = FIC(A) + FIC(B)

= [A]/MIC(A) + [B]/MIC(B)

[A] คือ ค่า MIC ของสาร A ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

[B] คือ ค่า MIC ของสาร B ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

MIC(A) คือ ค่า MIC ของสาร A

MIC(B) คือ ค่า MIC ของสาร B

การแปลผล FICI : ≤ 0.5 = เสริมฤทธิ์กัน (synergy), 0.5 < FICI ≤ 4.0 = ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (indifference), > 4.0 = ฤทธิ์ต้านกัน (antagonism) (Lorian, 2005)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ค่า MIC ของยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ

จากการทดสอบความไวของเชื้อทดสอบต่อยาเจนตามัยซินโดยวิธี agar dilution method ให้ผลดังตารางที่ 1 พบว่าค่า MIC ของยาเจนตามัยซินต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 มีค่าเท่ากับ 0.25 และ 16 µg/ml ตามลำดับ และค่า MIC ของยาเจนตามัยซินต่อ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้จำนวน 15 ไอโซเลท มีค่าอยู่ในช่วง 32-256 µg/ml ซึ่งมีจำนวน 5 ไอโซเลทที่มีค่า MIC เท่ากับ 128 µg/ml (33.3%) และ 5 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 64 µg/ml (33.3%) ส่วน 4 ไอโซเลท มีค่า MIC เท่ากับ 256 µg/ml (26.7%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า MRSA ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ดื้อต่อยาเจนตามัยซิน เนื่องจาก *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเจนตามัยซินจะต้องมีค่า MIC ≥ 16 µg/ml (Murray *et al*, 2003) จากผลการทดสอบชี้ให้เห็นว่ายาเจนตามัยซินซึ่งเป็นยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ไม่สามารถนำมารักษาโรคติดเชื้อ MRSA ได้ ถ้าหากต้องการใช้ยาเจนตามัยซินในการรักษาจึงควรใช้ร่วมกับยากลุ่มอื่นๆ ด้วย เช่น ยาในกลุ่มเบต้าแลคแทม ไกลโคเปปไทด์ เป็นต้น (Kim *et al*., 2007; Vincent *et al*., 2006) ซึ่งการดื้อยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ของเชื้อเกิดจากหลายกลไก เช่น การเปลี่ยนแปลงสมบัติการคัดเลือกสารผ่านเข้าสู่เซลล์ การสร้างเอนไซม์มาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา และการเปลี่ยนแปลง binding site ของยาบนไรโบโซม โดยกลไกการดื้อยาอะมิโนไกลโคไซด์ของ staphylococci ที่พบบ่อยเกิดจากการสร้างเอนไซม์มาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยาส่งผลให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ เอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ acetyltranferase (AAC), adenylyltrans-ferase (ANT) หรือ phosphotranferase (APH) ซึ่งเอนไซม์

AAC จะไปเปลี่ยนแปลงหมู่อะมิโนของยา ส่วนเอนไซม์ ANT หรือ APH จะเปลี่ยนแปลงหมู่ไฮดรอกซิลของยา เมื่อโครงสร้างของยาเปลี่ยนแปลงไปจึงทำให้ยาไม่สามารถจับกับไรโบโซมได้ ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อได้ (Paulsen *et al*., 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการดื้อยาเจนตามัยซินและการดื้อยาเจนตามัยซินพร้อมกับยาโทบรามัยซินและกานามัยซินของ staphylococci เกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ AAC(6') และ APH(2'') (Ubukata *et al*., 1984; Matsumara *et al*., 1884)

ปัญหาที่สำคัญเป็นอันดับหนึ่งของการใช้ยาปฏิชีวนะนั้นก็คือการดื้อยา ซึ่งเป็นปัญหาที่แผ่ขยายไปทั่วโลก การที่เชื้อแบคทีเรียเกิดการดื้อยาหลายๆ ชนิดเพิ่มมากขึ้นส่งผลทำให้การรักษาโรคติดเชื้อมีความยากลำบากในการรักษามากขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้ยาไปในทางที่ผิดและใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในปริมาณที่มากเกินไป ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียในธรรมชาติมีพัฒนาการและนำไปสู่การดื้อยาเพิ่มมากขึ้น (Barrett *et al*., 1968; Lowy, 1998; Parker & Hewitt, 1970) MRSA เป็นแบคทีเรียที่เป็นอันตรายมากและเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์เนื่องจากเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อและเชื้อยังมีการดื้อยาหลายชนิดที่ใช้ในการรักษาอีกด้วย ปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าหาสารจากธรรมชาติเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อ MRSA เป็นจำนวนมาก และมีการนำสารดังกล่าวมาใช้เป็นยาเพื่อรักษาการติดเชื้อจาก *S. aureus* ซึ่งเป็นปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสนใจ (Tsuji & Rybak, 2005)

2. ค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อเชื้อทดสอบ

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารแอลฟาแมงโกสตินแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 เท่ากับ 12.5 μg/ml และค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อ MRSA จำนวน 15 ไอโซเลท มีค่าอยู่ใน ช่วง 6.25-12.5 μg/ml ซึ่งมีจำนวน

ตารางที่ 1 ค่า MIC ของยาเจนตามัยซินและสารแอลฟาแมงโกสตินต่อเชื้อทดสอบ

เชื้อทดสอบ	**MIC (μg/ml)**	
	เจนตามัยซิน	**แอลฟาแมงโกสติน**
S. aureus ATCC 25923	0.25	12.5
S. aureus ATCC 43300	16	12.5
MRSA No. 1	256	12.5
MRSA No. 2	256	6.25
MRSA No. 3	256	6.25
MRSA No. 4	64	6.25
MRSA No. 5	64	6.25
MRSA No. 6	128	6.25
MRSA No. 7	128	6.25
MRSA No. 8	128	6.25
MRSA No. 9	64	6.25
MRSA No. 10	64	6.25
MRSA No. 11	128	6.25
MRSA No. 12	128	6.25
MRSA No. 13	32	6.25
MRSA No. 14	256	6.25
MRSA No. 15	64	12.5

13 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 μg/ml (86.7%) และจำนวน 2 ไอโซเลท ที่มีค่า MIC เท่ากับ 12.5 μg/ml (13.3%) ซึ่งค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินในการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Sakagami *et al*. (2005) พบว่าสารแอลฟาแมงโกสตินสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้โดยมีค่า MIC ตั้งแต่ 6.25-12.5 μg/ml และพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Enterococci* spp. ที่ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน (vancomycin-resistant *Enterococci* spp. : VRE) ได้อีกด้วย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 μg/ml และจากการศึกษาของ Iinuma *et al*. (1996) พบว่าสารแอลฟาแมงโกสตินสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.57-12.5 μg/ml นอกจากนี้สารแอลฟาแมงโกสตินยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis* และ *Salmonella* Typhimurium ได้ (Torrungruang *et al*., 2007) รวมทั้งสามารถยับยั้งยีสต์ก่อโรคได้ เช่น *Candida albicans* เป็นต้น (Kaomongkolgit *et al*., 2009)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซิน โดยวิธี checkerboard agar dilution

เมื่อนำสารแอลฟาแมงโกสตินที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2×MIC ถึง 1/8×MIC มาร่วมกับยาเจนตามัยซินที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2×MIC ถึง 1/8×MIC มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ จำนวน 15 ไอโซเลท พบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาเจนตามัยซินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 25923 มีค่าลดลง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของสารหรือยาเพียงชนิดเดียว และพบว่าค่า MIC ของยาเจนตามัยซินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้คนไข้ลดลงเป็น 2-8 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของยาเจนตามัยซินเพียงชนิดเดียว ส่วนค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินในสารผสมต่อ *S. aureus* ATCC 43300 และ MRSA ที่แยกได้คนไข้ลดลงเพียงเล็กน้อยคือลดลง 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC ของสารเพียงชนิดเดียว ซึ่งแสดงดังตารางที่ 1 และ 2 และเมื่อคำนวณค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม (FICI) ของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซิน พบว่าค่า FICI ต่อเชื้อทดสอบทุกไอโซเลท มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-1.0 โดยค่า FICI ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็น MSSA มีค่าเท่ากับ 0.5 หมายความว่าฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน ส่วนค่า FICI ต่อ *S. aureus* ATCC 43300 ซึ่งเป็น MRSA และ MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยทุกไอโซเลท มีค่ามากกว่า 0.5 ซึ่งหมายความว่ามีฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินและยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว ซึ่งจากรายงานของ Sakagami *et al*. (2005) พบว่าฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA จำนวน 9 ไอโซเลท เป็นแบบเสริมฤทธิ์กันบางส่วน โดยมีค่า FICI เท่ากับ 0.667 ส่วนฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินกับยาแวนโคมัยซินเป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งมีค่า FICI เท่ากับ 0.441 (Sakagami *et al*., 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพร่วมของสารชนิดอื่นกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA พบว่าสาร myristylamine ร่วมกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินมีฤทธิ์แบบต้านกัน ส่วนฤทธิ์ร่วมกันของยาเจนตามัยซินกับสาร 20-hydroxyecdysone ซึ่งแยกได้จากรากของ *Achyranthes japonica* Nakai และฤทธิ์ร่วมกันของยาเจนตามัยซินกับสาร galangin ซึ่งแยกได้จากข่าตาแดง (*Alpinia officinarum*) เป็นแบบเสริมกัน (Eun Sook *et al*., 2009; Lee *et al*., 2008) จากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซินอาจไม่สามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA ได้ ดังนั้นควรจะมีการทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของสารชนิดอื่นที่แยกได้จากสมุนไพรไทยร่วมกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้งการเจริญของ MRSA ในขั้นต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารแอลฟาแมงโกสตินที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดและยาเจนตามัยซินในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ซึ่งได้แก่ *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) และ MRSA ที่แยกได้จากคนไข้ จำนวน 15 ไอโซเลท โดยวิธี agar dilution พบว่าค่า MIC ของสารแอลฟาแมงโกสตินต่อเชื้อทดสอบมีค่าตั้งแต่ 6.25-12.5 μg/ml และค่า MIC ของยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบมีค่าตั้งแต่ 0.25-256 μg/ml จากการทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของสารแอลฟาแมงโกสตินกับยาเจนตามัยซินในการยับยั้ง MRSA โดยวิธี checkerboard agar dilution พบว่ามีฤทธิ์เป็นแบบไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA พบว่ามีฤทธิ์เป็นแบบเสริมฤทธิ์กัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้ความ

ตารางที่ 2 ค่า MIC และ FICI ของสารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยาเจนตามัยซินต่อเชื้อทดสอบ

เชื้อทดสอบ	MIC (สารผสม) (μg/ml)		FICI	แปลผล*
	เจนตามัยซิน	แอลฟาแมงโกสติน		
S. aureus ATCC 25923	0.0625	3.125	0.50	synergy
S. aureus ATCC 43300	8	6.25	1.0	indifference
MRSA No. 1	64	6.25	0.75	indifference
MRSA No. 2	32	3.125	0.625	indifference
MRSA No. 3	64	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 4	32	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 5	16	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 6	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 7	32	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 8	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 9	8	3.125	0.625	indifference
MRSA No. 10	32	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 11	32	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 12	64	3.125	1.0	indifference
MRSA No. 13	8	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 14	64	3.125	0.75	indifference
MRSA No. 15	32	6.25	1.0	indifference

หมายเหตุ : * หมายถึง FICI : ≤ 0.5 = เสริมฤทธิ์กัน (synergy), 0.5 < FICI ≤ 4.0 = ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (indifference), > 4.0 = ฤทธิ์ต้านกัน (antagonism)

อนุเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสติน ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช จังหวัดลพบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียสำหรับทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

ภัทรชัย กีรติสิน. (2549). *ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์*. กรุงเทพฯ: วี.เจ. พริ้นติ้ง.

พรรณทิพย์ ฉายากุล. (2543). *โรคติดเชื้อที่ปรากฏขึ้นใหม่และโรคติดเชื้อที่ปรากฏขึ้นอีก 1*. กรุงเทพฯ:โฮลิสติก พับลิชชิ่ง.

Barrett, F. F., McGehee, R. F., & Finland, F. (1968). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at boston city hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations. *The New England Journal of Medicine, 279*, 441-448.

Eun Sook, K., Jepng, S., Kim, J.H., Park, C., Kim, S.M., Kim, J.K., Lee, K.M., Lee, S.H., So, H., & Park, R. (2009). Synergistic effects of the combination of 20-Hydroxyecdysone with ampicillin and gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Microbiological Biotechnology, 19*, 1576-1581.

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

Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R., & Miyauchi, K. (1996). Antibacterial activity of xanthones from guttiferaeous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 48*, 861-865.

Kaomongkolgit, R., Jamdee, K., & Chaisomboon, N. (2009). Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans. Journal of Oral Science, 51*, 401-406.

Kim, C., Lin, G., & Peter, C. A. (2007). Activity of daptomycin alone and in combination with rifampin and gentamicin against *Staphylococcus aureus* assessed by time-kill methodology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51*, 1504-1507.

Lee, Y. S., Kang, O. H., Choi, J. G., Oh, Y. C., Chae, H. S., Kim, J. H., Park, H., Sohn, D. H., Wang, Z. T., & Kwon, D. Y. (2008). Synergistic effects of the combination of galangin with gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus. The Journal of Microbiology, 46*, 283-288.

Lorain, V. (2005). *Antibiotics in laboratory medicine*. 5th ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins.

Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of Medical Microbiology, 339*, 520-532.

Matsumara, M., Katakura, T., Imanaka, T. & Aiba, S. (1984). Enzymatic and nucleotide sequence studies of a kanamycin-inactivating enzyme encoded by a plasmid from thermophilic bacilli in comparison with that encoded by plasmid pUB110. *Journal of Bacteriology, 160*, 413-420.

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

Parker, M. T., & Hewitt, J. M. (1970). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus. Lancet, 1*, 800-804.

Paulsen, I. T., Firth, N. & Skurray, R. A. (1997). Resistance to antimicrobial agents other than β-lactams. In *The Staphylococci in Human Disease* (Crossley, K. B. & Archer, G. L., Eds), pp. 175-212. Churchill Livingstone, New York.

Pothitirat, W., & Gritsanapan, W. (2008). Quantitative analysis of total mangostin in *Garcinia mangostana* fruit rind. *Journal of Health Research, 22*, 161-166.

Sakagami, Y., Iinumab, M., Piyasenac, N. P., & Dharmaratne, H. R. (2005). Antibacterial activity of alpha-mangostin against vancomycin resistant Enterococci (VRE) and synergism with antibiotics. *Phytomedicine, 12*, 203-208.

Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adiguzel, A., Ozturk, S., Kotan, R. (2003). Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology, 87*, 61-65.

Torrungruang, K., Vichienroj, P., & Chutimaworapan, S. (2007). Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans. Chulalongkorn University Dental Journal, 30*, 1-10.

Tsuji, B. T. & Rybak, M. J. (2005). Short-course gentamicin in combination with daptomycin or vancomycin against *Staphylococcus aureus* in an *in vitro* pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49*, 2735-2745.

Ubukata, K., Yamashita, N., Gotoh, A. & Konno, M. (1984). Purification and characterization of aminoglycoside-modifying enzymes from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 25*, 754-759.

Vincent, H. T., Kabbara, S., Vo, G., Schilling, A. N., & Coyle, E. A. (2006). Comparative pharmacodynamics of gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50*, 2626-2631.