

ทิพวรรณ พิมพ์จันทร์ : ผลการต้านแบคทีเรียของแอลฟาแมงโกสตินและยาปฏิชีวนะกลุ่ม
บีตาแลคแทม และการผสมกันของแบคทีริโอเฟจกับสารสกัดจากพืช

(ANTIBACTERIAL EFFECTS OF α -MANGOSTIN AND BETA-LACTAM

ANTIBIOTICS AND COMBINATIONS OF BACTERIOPHAGES AND PLANT

EXTRACTS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ เกษัชกร ดร.เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ, 152
หน้า.

การรักษาการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อดื้อยาเป็นปัญหาที่ท้าทาย การศึกษาครั้งนี้จึงได้
ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและการเสริมฤทธิ์ของแอลฟา-แมงโกสตินเมื่อใช้ร่วมกับยา
ปฏิชีวนะกลุ่มบีตาแลคแทมบางชนิดต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยา วิทยานิพนธ์นี้ยังได้ทำการศึกษา
ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืช 3 ชนิดคือ สารสกัดจากกระชาย สารสกัดจากเพกา และ
สารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง ร่วมกับแบคทีริโอเฟจ เอสยู 16 และ เอสยู 27 ต่อการต้านเชื้อเอส
เชอริเชีย โคลไล ค่าความเข้มข้นในการยับยั้งต่ำสุด (เอ็มไอซี) ของแอลฟา-แมงโกสตินในการต้าน
เชื้อเอ็นเทอโรค็อกคัส ฟิเซียม เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรในขณะที่ค่าเอ็มไอซีมีค่าสูง (>2048
ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) พบในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ถูกนำมาทดสอบทั้งหมด เชื้ออซิเนโตแบค
เตอร์ บอมมานิไอที่นำมาทดสอบทั้งหมด และเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซาบางสายพันธุ์คือต่อยา
เซฟตาซิมและ เซฟไตรอะโซน มีค่าเอ็มไอซีเท่ากับ 800 และ >2048 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร
ตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อเอ็นเทอโรค็อกคัส ฟิเซียม 2 สายพันธุ์ยังคือต่อยาแอมพิซิลลิน มีค่าเอ็มไอซี
เท่ากับ 32 และ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จากการทดสอบด้วยวิธีเชกเกอร์บอร์ด แสดงให้เห็น
การเสริมฤทธิ์กันของแอลฟา-แมงโกสติน กับยาเซฟตาซิมและยาเซฟไตรอะโซนต่อการต้านเชื้อ
อซิเนโตแบคเตอร์ บอมมานิไอทุกสายพันธุ์ โดยมีค่าดัชนีสัดส่วนการยับยั้งเท่ากับ <0.35 และ <0.24
ตามลำดับ กราฟแสดงการตายของเชื้อได้ยืนยันปฏิสัมพันธ์ที่เสริมฤทธิ์กันในการใช้แอลฟา-แมง
โกสตินร่วมกับยาเซฟตาซิม ในการต้านเชื้ออซิเนโตแบคเตอร์ บอมมานิไอ ดีเอ็มเอสที 45378
ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง
ผ่านของเซลล์ที่ได้รับสารผสมแอลฟา-แมงโกสตินร่วมกับยาเซฟตาซิม แสดงให้เห็นความเสียหาย
อย่างชัดเจนของผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงของสารภายในเซลล์ พื้นที่ของเซลล์ยัง
พบว่ามีความเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (พี < 0.01) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ การใช้แอลฟา-แมง
โกสตินร่วมกับยาเซฟตาซิม เพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและเยื่อหุ้ม
เซลล์ชั้นนอกและลดความหนาและความเข้มของแถบโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มชั้นนอกและ

แบคทีเรียโอเฟจกับสารสกัดจากพืช พบว่าค่าเอ็มไอซีของสารสกัดจากบระเพ็ดพุงช้าง สารสกัดจากกระชาย และสารสกัดจากเพกา ต่อเชื้อเอสเชอริเชีย โคลิ 16 และ 27 มีค่าเท่ากับ 4 16 และ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ค่าเอ็มบีซีเท่ากับ 16 32 และ 32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดผสมกับแบคทีเรียโอเฟจ ผลจากกราฟแสดงการตายของเชื้อแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียโอเฟจหรือสารสกัดจากพืชเพียงอย่างเดียวและเซลล์ที่รับสารผสมแบคทีเรียโอเฟจ เอสยู 27 และสารสกัดจากกระชายหรือสารสกัดจากเพกา ต่อการต้านเชื้อเอสเชอริเชีย โคลิ 27 โดยการกลับมาเจริญของแบคทีเรียถูกพบหลังผ่านไป 6 ชั่วโมง และสูงขึ้นในระดับที่เท่ากันที่ 24 ชั่วโมง กล่าวโดยสรุปได้ว่า การผสมแอลฟา-แมงโกสตินกับยาเซฟตาซิม หรือเซฟไตรอะโซน สามารถแสดงผลการเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งแบคทีเรียที่คือต่อยาเซฟตาซิม และยาเซฟไตรอะโซนได้ โดยการทำลายความสามารถในการซึมผ่านของ เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก ลดโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและเพปทิโดไกลแคน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บีตาแลคแทมเมส นอกจากนี้ การผสมกันระหว่างสารสกัดจากพืช กับแบคทีเรียโอเฟจไม่แสดงผลการเสริมฤทธิ์กัน วิธีการเสริมฤทธิ์นี้น่าจะใช้เป็นเครื่องมือใหม่ในการต่อสู้กับแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คือยาได้

สาขาวิชาชีววิทยา
ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา ทิววรรณ นิมรันรินทร์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [ลายมือ]

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [ลายมือ]

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [ลายมือ]

THIPPAWAN PIMCHAN : ANTIBACTERIAL EFFECTS OF α -MANGOSTIN AND BETA-LACTAM ANTIBIOTICS AND COMBINATIONS OF BACTERIOPHAGES AND PLANT EXTRACTS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. GRIANGSAK EUMKEB, Ph.D. 152 PP.

α -MANGOSTIN / BETA-LACTAM ANTIBIOTIC / BACTERIOPHAGES/ PLANT EXTRACTS /ANTIBACTERIAL EFFECTS

Treatments for antibiotic-resistant infections are of challenging issues. This study, therefore, investigated, antibacterial and synergistic activities of α -mangostin (AMT) and some β -lactam antibiotics combination against antibiotic-resistant bacteria. This thesis also evaluated the combined antibacterial activity of three plant extracts (*Boesenbergia rotunda*: BRE, *Stephania suberosa*: SSE and *Oroxylum indicum*: OIE) with bacteriophages SU16 and SU17 against *Escherichia coli* isolates. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of AMT against *Enterococcus faecium* isolates were equally 2 $\mu\text{g/mL}$, while high MICs (>2048 $\mu\text{g/mL}$) were observed in all tested Gram-negative bacteria. All tested *Acinetobacter baumannii* and some *Pseudomonas aeruginosa* isolates were resistant to ceftazidime (CAZ) and ceftriaxone (CTX) at the MICs of 800 and 2048 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Two strains of *E. faecium* were also resistant to ampicillin (AMP) at the MICs of 32 and 128 $\mu\text{g/mL}$. Checkerboard assay demonstrated synergistic activity of AMT with CAZ or CTX against all tested *A. baumannii* at fraction inhibitory concentration indices of <0.35 and <0.24, respectively. The killing curve determination confirmed the synergistic interaction of AMT/CAZ combination against *A. baumannii* DSMT 45378. Scanning

electron microscope and transmission electron microscope imaging of cells treated with AMT/CAZ combination displayed the marked damage to the cell wall, cell membrane and change of intracellular structure. A significant increase in cell area was also observed compared to other groups ($P < 0.01$). AMP/CAZ combination increased the permeability of cytoplasmic (CM) and outer membrane (OM) and reduced the thickness and intensity of outer membrane and peptidoglycan-associated protein (OMPG) bands. AMT inhibited β -lactamase activity in a dose-dependent manner. Regarding the results of bacteriophages/plant extracts, the MICs of SSE, BRE, and OIE against ECOR-16 and ECOR-27 were 4, 16 and 16 mg/mL, while MBCs were 16, 32 and 32 mg/mL, respectively. When the extracts were combined with phages, the results from killing curve assay demonstrated that the marked difference in viabilities of ECOR after phages- or plant extracts-treated alone and cells treated with combined agents was seen only in phage SU 27 plus BRE or OIE against ECOR-27. These bacteria regrew after 6 h of treatment and reached the similar viability of untreated control at 24 h. In conclusion, AMT/CAZ or CTX combination synergistically inhibited CAZ- and CTX-resistant bacteria by damaging to OM and CM permeability, OMPG, and by inhibiting β -lactamase activity. Furthermore, the combinations of extracts/phage were not synergistic. The synergy approach could potentially be a novel tool to combat the resistant strains.

School of Biology

Academic Year 2017

Student's Signature Thippawan Pinchan

Advisor's Signature G. Eumkub

Co-Advisor's Signature [Signature]

Co-Advisor's Signature [Signature]