ประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส

The Antibacterial Activities of Polyurethane mixed with Nanosilver against Opportunistic Gram–negative Bacteria

เอื้อมพร เอี่ยมแพร[1]พรเพ็ญ อาทรกิจวัฒน์[2]และ วิสาตรี คงเจริญสุนทร[1]*,

Uamporn Iamprae[1], Pornpen Atorngitjawat[2]and Wisatre Kongcharoensuntorn[1]*

[1]*ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2]*ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ซึ่งมีความเข้มข้นของนาโนซิลเวอร์แตกต่างกัน (40 100 200 500 และ 1000 ppm) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส คือ *Escherischia coli* ATCC25913, *Pseudomonas aeruginosa* ดื้อยาและไม่ดื้อยาและ *Proteus mirabilis* ด้วยวิธี Agar diffusion Susceptibility Test และ Broth dilution Susceptibility Test ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส โดยมีค่า MIC ระหว่าง 100 – 1000 ppm และพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 1000 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* สูงที่สุด คือ ร้อยละ 86.70

คำสำคัญ: แบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส/ พอลิยูรีเทน / นาโนซิลเวอร์/ การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

Abstract

The objectives of this research were to study the antibacterial activities of polyurethane mixed with nanosilver, which had been prepared with 5 different silver concentrations (40, 100, 200, 500, and 1000 ppm). The polyurethane mixed with nanosilver were tested against opportunistic gram–negative bacterium, *Escherischia coli* ATCC25913, Drug–resistant and non–resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*, by Agar Disc Diffusion Susceptibility Testand Broth dilution Susceptibility Test. The results were shown that polyurethane mixed with nanosilver inhibited the growth of opportunistic gram–negative bacteria, with the MICs of 100 – 1000 ppm. Also, polyurethane mixed with 1000 pmm nanosilver showedthe highest antibacterial activity against *P. aeruginosa* at 86.70% of inhibition.

Keywords: Opportunistic Gram–negative Bacteria / Polyurethane / Nanosilver / Antibacterial activity

***Corresponding author. E–mail:** wisatre@hotmail.co.th

1. บทนำ

ในปัจจุบันแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบฉวยโอกาสก่อโรคมีความสำคัญทางการแพทย์ ก่อโรคในร่างกายที่อ่อนแอได้หลายระบบ ซึ่งในภาวะปกติจะไม่ก่อโรคในคนที่ร่างกายมีภูมิต้านทานโรคปกติแต่จะก่อโรคเฉพาะในคนที่ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำ หรือบกพร่องเท่านั้น (Dellit *et al*., 2007) ระบาดวิทยาของการติดเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลของผู้ป่วย พบว่า มีการติดเชื้อในโรงพยาบาลเพิ่มขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวมีความไวต่อยาปฏิชีวนะเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลาแบคทีเรียฉวยโอกาสก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อน และเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาจำนวนมาก (Sheng *et al*., 2005) เชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาสที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลในประเทศไทยเกิดจากแบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 70 ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบที่มักเป็นสาเหตุของการติดเชื้อได้แก่ *Escherichia coli* ร้อยละ 9.1 *Pseudomonas aeruginosa* ร้อยละ 6.8 (วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, 2551) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบฉวยโอกาสที่สำคัญและก่อปัญหาสาธารณสุขอื่น ๆ เช่น *Proteus mirabilis* ซึ่งเป็นหนึ่งในเชื้อฉวยโอกาสที่เป็นสาเหตุสำคัญในการติดเชื้อร้ายแรงในระบบทางเดินปัสสาวะ และเมื่อเกิดการติดเชื้อ *P.mirabilis* แล้วจะรักษาได้ยาก (Stamm, 1992) การแก้ปัญหาของแบคทีเรียเหล่านี้อาจทำได้หลายวิธี เช่น การพัฒนาวัสดุซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีในการต้านจุลินทรีย์ เพื่อใช้ทำอุปกรณ์ทางการแพทย์ และวัสดุที่ใช้ต้องย่อยสลายง่าย ร่างกายไม่ตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและไม่เป็นอันตรายต่อผู้ป่วยที่ต้องรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานาน

พอลิยูรีเทน (Polyurethane; PU) เป็นหนึ่งในพอลิเมอร์สังเคราะห์ และพัฒนาในทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง เนื่องจากคุณสมบัติหลายประการ เช่น เข้ากับเนื้อเยื่อของร่างกายได้ มีความแข็งแรงทนทาน สามารถทนรับแรงกดทับได้ดี ทนต่อการเสียดสีและฉีกขาด มีความเหนียวและยืดหยุ่นได้ดี (Lamba *et al*., 1998) ประหยัดค่าใช้จ่ายในการสังเคราะห์ สามารถปรับเปลี่ยนสารสังเคราะห์เพื่อให้มีคุณสมบัติที่หลากหลายเหมาะกับการเลือกใช้งานแต่ละประเภท และไม่เป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ (Kuan *et al.,* 2005) อย่างไรก็ตามพอลิยูรีเทนไม่สามารถต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ได้ ในการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์จึงมักจะใช้ร่วมกับสารอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น เงิน (Ag) และอนุภาคนาโนซิล-เวอร์ (Nano–Ag) เมื่อผสมลงบนผิวของพอลิยูรีเทนทำให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *Bacillus subtilis* (Hsu, Tseng and Lin, 2010) พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์จึงเป็นหนึ่งในวัสดุที่เหมาะสมจะนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์เพื่อแก้ปัญหาโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลต่อไป

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส คือ *E. coli* ATCC 25913*, P. aeruginosa* ดื้อยาและไม่ดื้อยาและ *P. mirabilis*

2. วิธีการ

2.1 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

E. coli ATCC 25913*, P. aeruginosa* และ *P. aeruginosa* ดื้อยา (1–375/04–2013)และ *P. mirabilis*ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลชลบุรี และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี

2.2พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์

ได้รับความอนุเคราะห์จากดร. พรเพ็ญ อาทรกิจวัฒน์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาเตรียมฟิล์มด้วยการผสมเป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสความเข้มข้นของนาโนซิลเวอร์40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, และ 1000 ppm เป็นแผ่นฟิล์มบาง ตัดเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm

2.3การทดสอบประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธีAgar Disc Diffusion Susceptibility Test

Subculture เชื้อจาก Stocked hemocultures แล้วนำมาเลี้ยงใน(Meuller – Hinton broth (MHB)) จากนั้นปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (มีปริมาณเชื้อเท่ากับ $1x10^{8}$ CFU/mL) ผสมเชื้อลงใน MHA แล้วทดสอบกับแผ่นพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้น 0 – 1000 pmm บ่มที่ 37°C 24 ชั่วโมงทดสอบ 3 ซ้ำวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่แบคทีเรียทดสอบถูกยับยั้ง (Inhibition zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตรและบันทึกผลการทดสอบ

2.4การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) **ด้วยวิธี** Broth Dilution Susceptibility test (CLSI, 2010)

เพาะเชื้อทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมงจากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวประมาณ 4 – 6 โคโลนีใส่ลงใน Muller Hilton Broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจากนั้นนำมาเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland standardหยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ปริมาตร 50 µL ลงในอาหาร MHB 1 mL บรรจุแผ่นพอลิยูรีเทนที่ความเข้มเข้นต่าง ๆ หลอดละ 1 แผ่นบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจากนั้นเจือจางแบคทีเรียทดสอบแบบ 10 – fold dilution ด้วย 0.85% Normal saline แล้ว spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วบ่มข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 °Cนับจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตจากจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นเทียบเป็นความเข้มข้นของแบคทีเรียที่รอดชีวิต (CFU/mL) บันทึกผลการทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มตัวอย่าง คำนวณหาค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (The effectiveness of the PU/silver nitrate antibacterial activity; EAA) (Sedlarik, *et al*., 2010) โดยใช้สูตรดังนี้

$$EAA(\%) = \frac{N_0 - N_s}{N_0} \times 100 \qquad (1)$$

EAA คือ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

N_0คือ จำนวนเซลล์แบคทีเรีย (CFU/mL) ของกลุ่มควบคุม (พอลิยูรีเทน)

N_sคือ จำนวนเซลล์แบคทีเรีย (CFU/mL) ของกลุ่มทดลอง (พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์)

2.5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วนำมาหาค่า MIC และ MBC วิเคราะห์ผลการทดลองด้วย การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบ Random Completely Block Design (RCBD) ด้วยวิธีของ Duncan Multiple Range Testโดยใช้ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.01

3. ผลและอภิปราย

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion Susceptibility Test

พอลิยูรีเทนไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ และ *P. aeruginosa* ถูกยับยั้งด้วยพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 200 และ 500 ppm ในขณะที่ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินเข้มข้น 10 µg/Disc ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. mirabilis* แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 1) ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion นั้นแสดงบริเวณใส (clear zone) ไม่ชัดเจน น่าจะเกิดจากการแตกตัวเป็นซิลเวอร์ไอออนและการแพร่กระจายในอาหารวุ้นของนาโนซิลเวอร์ในพอลิยูรีเทนนั้นอาจจะไม่เหมาะสมหรืออัตราการแพร่กระจายของอนุภาคซิลเวอร์ไอออนมีปริมาณน้อยจนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ จึงทำให้ผลการทดสอบไม่ชัดเจน

3.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) **ด้วยวิธี** Broth Dilution Susceptibility test **ของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์**

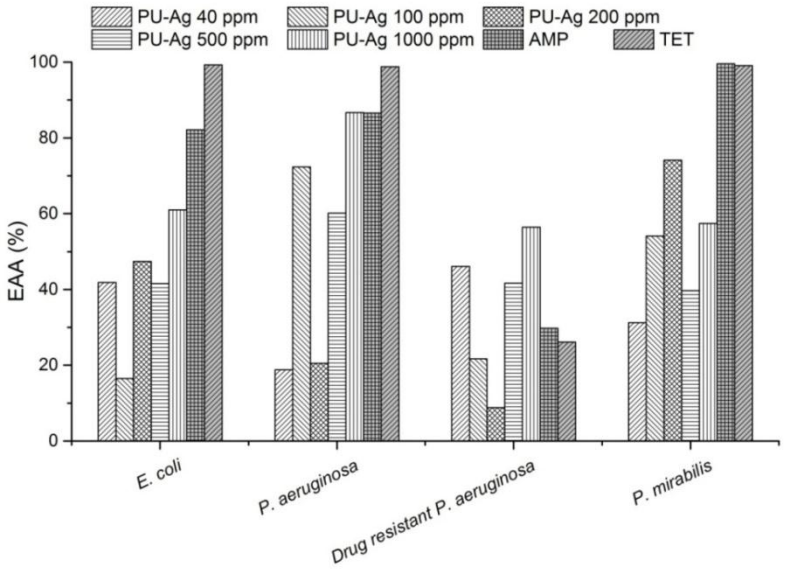
พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* และ *P. mirabilis* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 100 ppm และน้อยที่สุดคือ *E. coli* ATCC 25913 และ *P. aeruginosa* ดื้อยา (MIC เท่ากับ 1000 ppm) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับยาปฏิชีวนะแอมพิ-ซิลลินและเตตราซัยคลินพบว่าพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์มีประสิทธิภาพต่ำกว่ายาทั้งสองชนิด เมื่อนำค่าจำนวนโคโลนีมา เปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธี ANOVA พบว่ากลุ่มที่ทดสอบด้วยพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

ระดับ 0.01 (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเปลี่ยนวิธีในการทดสอบทำให้ประสิทธิภาพการละลายของซิลเวอร์ไอออนสูงมากขึ้น จึงแทรกซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น เนื่องจากซิลเวอร์ไอออนละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลาย ได้ดีกว่าอาหาร MHA ซึ่งมีลักษณะเป็นอาหารวุ้น เพราะสารละลายนาโนซิลเวอร์ (Aqueous solution) มีความสามารถในการปลดปล่อยซิลเวอร์ไอออนออกมา (Morones *et al*., 2005; Sanpui *et al*., 2008) และกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียน่าจะมาจากซิลเวอร์ไอออนที่ปลดปล่อยออกมาสามารถเข้าไปจับกับหมู่ thiol group ของโปรตีนที่พบในเอนไซม์หลายชนิดของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการยับยั้งปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์แบคทีเรีย ยับยั้งกลไกการหายใจระดับเซลล์ทำให้ดีเอ็นเอของแบคทีเรียเสียสภาพ และยังยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (Park *et al*., 2009)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งแบคทีเรียเมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar Disc Diffusion Susceptibility Test

แบคทีเรีย	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิเมตร)							
	40 ppm	100 ppm	200 ppm	500 ppm	1000 ppm	Control		
						PU	AMP 10μg/Disc	TET 30 μg/Disc
E. coli ATCC25913	–	–	–	–	–	–	–	7±0.00
P. aeruginosa	–	–	7.00±0.17	7.00±0.17	–	–	–	21.17±0.06
P. mirabilis	–	–	–	–	–	–	21.00±0.17	9.70±0.06

หมายเหตุ –หมายถึง เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm อักษรย่อ PU หมายถึง พอลิยูรีเทน AMP หมายถึง แอมพิซิลลิน TET หมายถึง เตตราซัยคลิน



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งแบคทีเรีย (EAA)

3.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ด้วยค่า The effectiveness of the PU–Ag antibacterial activity (EAA)

พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *P. aeruginosa* สูงที่สุดร้อยละ 86.70 รองลงมาคือประสิทธิภาพในการยับยั้ง *P. mirabilis* มีค่า EAA ร้อยละ 74.14 เมื่อใช้พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 200 ppm และพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 1000 ppm ยับยั้ง *E. coli* ATCC 25913 ได้ร้อยละ 60.97 แต่พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์เข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *P. aeruginosa* ดื้อยา ต่ำที่สุด มีค่า EAA ร้อยละ 50.43 อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบค่า EAA กับยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินพบว่ายาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดยับยั้งแบคทีเรียได้ ร้อยละ 29.75 และ 26.10 ตามลำดับ (ภาพที่ 1) จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของนาโนซิลเวอร์มีต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้สูงขึ้น Paul *et al.* (2012) รายงานว่าอนุภาคนาโนฟลูอิดผสมนาโนซิลเวอร์ที่มีความเข้มข้นสูงจะทำให้อนุภาคของนาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กลง และขนาดที่เล็กลงจะทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียสูงขึ้น (Liu*et al*., 2010) และการเตรียมพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้นมาก จะทำให้มีอัตราการปลดปล่อยซิลเวอร์ไอออนออกจากพอลิยูรีเทนมากขึ้นเช่นกัน ส่งผลให้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเกิดขึ้นได้ดีที่ความเข้มข้นของนาโนซิลเวอร์สูงมากขึ้น (Zapata*et al*., 2011) แต่เมื่อเตรียมความเข้มข้นของนาโนซิลเวอร์ต่ำ อาจทำให้อัตราการปลดปล่อยซิลเวอร์ไอออนอาจจะอยู่ในระดับที่ไม่แน่นอน หรือปลดปล่อยได้น้อยลง ส่งผลให้การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียมีแนวโน้มที่ไม่คงที่

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งแบคทีเรียเมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar Disc Diffusion Susceptibility Test

แบคทีเรีย	**เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิเมตร)**							
	40 ppm	100 ppm	200 ppm	500 ppm	1000 ppm	Control		
						PU	AMP 10μg/Disc	TET 30 μg/Disc
E. coli ATCC25913	–	–	–	–	–	–	–	7±0.00
P. aeruginosa	–	–	7.00±0.17	7.00±0.17	–	–	–	21.17±0.06
P. mirabilis	–	–	–	–	–	–	21.00±0.17	9.70±0.06

หมายเหตุ–หมายถึง เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm อักษรย่อ PU หมายถึง พอลิยูรีเทน AMP หมายถึง แอมพิซิลลิน TET หมายถึง เตตราซัยคลิน

ตารางที่ 2 จำนวนโคโลนีแบคทีเรียในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Broth Dilution Susceptibility Test

เชื้อแบคทีเรีย	จำนวนโคโลนี (×10^5 CFU/mL)								MIC (ppm)
	PU–Ag 40 ppm	PU–Ag 100 ppm	PU–Ag 200 ppm	PU–Ag 500 ppm	PU–Ag 1000 ppm	Control			
						PU	AMP 10μg/ดิสก์	TET 30 μg/ดิสก์	
E. coli ATCC 25913	199.67±33.50 ^{de}	286.67±35.12 ^{fg}	180.67±20.65 ^{cde}	200.67±38.55 ^{de}	134.00±18.68 ^{bcd}	343.33±66.58 ^{g}	61.33±15.89 ^{ab}	2.43±0.49 ^{a}	1000
P. aeruginosa	9.50±1.42 ^{d}	3.23±0.29 ^{bc}	9.30±1.48 ^{d}	4.67±0.15 ^{c}	1.56±1.22 ^{ab}	11.70±1.57 ^{e}	1.57±1.17 ^{ab}	0.15±3.23 ^{a}	100
P. aeruginosa ดื้อยา	0.94±0.19 ^{a}	1.36±0.06 ^{abc}	1.58±0.15 ^{bc}	1.01±0.22 ^{ab}	0.76±0.21 ^{a}	1.74±0.25 ^{c}	1.22±0.33 ^{abc}	1.28±0.44 ^{abc}	1000
P. mirabilis	165.67±29.70 ^{d}	110.67±9.29 ^{bc}	62.33±9.29 ^{b}	145.33±15.82 ^{cd}	102.67±16.65 ^{cd}	241.00±41.94 ^{e}	1.03±0.21 ^{a}	22.13±0.42 ^{a}	100

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

4. บทสรุป

การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* ATCC25913 *P. aeruginosa* ดื้อยาและไม่ดื้อยา และ *P. mirabilis* ได้แตกต่างกันและให้ค่า MIC ระหว่าง 100 – 1000 ppm โดยพบว่าพอลิยูรีเทนผสมนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* สูงที่สุด

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา และโรงพยาบาลชลบุรี จังหวัดชลบุรี ที่มอบตัวอย่างแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบครั้งนี้และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. (2551). โคลิสติน: ยาต้านจุลชีพ. *เวชบันทึก ศิริราช*, *3*, 152–158.

Clinical and standard Institute. (2010). *Performanec standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement*. Document M100–S20. Wayne, PA: CLSI.

Dellit, T.H., Owens, R.C., McGowan, J.E., Gerding, D.N., Weinstein, R.A. and Burke, et al. (2007). Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship.*Antimicrobial Stewardship Guidelines* , *44*, 159 – 177.

Hsu, S., Tseng, H. and Lin, Y. (2010). The biocompatibility and antibacterial properties of waterborne polyurethane–silver nanocomposites. *Biomaterials,31*, 6796–6808.

Kuan, H.C., Ma, C.C.M., Chang, W.P., Yuen, S.M., Wu, H.H. and Lee, T.M. (2005). Synthesis, thermal, mechanical and rheological properties of multiwall carbon nanotube/waterborne polyurethane nanocomposite. *Composites Science and Technology*, *65*, 1703–1710.

Lamba, N., Woodhouse, K. and Couper, S.L. (1998). *Polyurethane in biomedical applications*. U.S.A.: CRC Press.

Liu, J., Sonshine, J.A., Shervani, S. and Robert, H. (2010). Controlled Release of Biologically Active Silver from Nanosilver Surfaces. *ASC Nano*,*4*(11), 6903–6913.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., *et. al*. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, *16*, 2346–2353.

Park, H., Kim, J.Y., Kim, J., Lee, J., Hahn, J., Gu, M.B., et. al. (2009). Silver–ion–mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity.*Water Research*, *43*, 1027–1032.

Paul, G., Sarkar, S., Pal, T., Das, P.K. and Manna, I. (2012). Concentration and size dependence of nano–silver dispersed water based nanofluids.*Journal of Colloid and Interface Science,371*, 20–27.

Sanpui, P., Murugadoss, A., Prasad, P.V.D., Ghosh, S.S. and Chattopadhyay, A. (2008). The antibacterial properties of a novel chitosan–Ag–nanoparticle composite.*International Journal of Food Microbiology*, 124,142–146.

Sedlarik, V., Galya, T., Sedlarikova, J., Valasek, P. and Saha, P. (2010). The effect of preparation temperature on the mechanical and antibacterial properties of poly(vinyl alcohol)/silver nitrate films.*Polymer Degradation and Stability*, *95*, 399–404.

Sheng, W.H., Chie, W.C., Chen, Y.C., Hung, C.C., Wang, J.T. and Chang, S.C. (2005). Impact of nosocomial infections on medical costs, hospital stay, and outcome in hospitalized patients.*Journal of the Formosan* Medical Association*, 104*(5),318–26.

Stamm, W.E. (1992). Nosocomial urinary tract infection In J.V. Benett and P.S. Brachman (Eds.). *Hospital Infection* (3rd ed.). Boston: Little Brown.

Zapata, P.A., Tamayo, L., Páez, M., Cerda, E., Azócar, I. and Rabagliati, F.M. (2011). Nanocomposites based on polyethylene and nanosilver particles produced by metallocenic "*in situ*" polymerization: synthesis, characterization, and antimicrobial behavior. *European Polymer Journal, 47*, 1541–1549.