

การเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) และ
เปลือกทับทิม (*Punica granatum*) ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*
Comparison of the Antimicrobial Activity of Crude Extracts from
Siam Weed Leaf (*Chromolaena odorata*) and Pomegranate Peel
(*Punica granatum*) Against *Staphylococcus aureus*

สิทธิวิสันต์ ดลวงศ์จันทอง^{1*}, พิมพ์ผกา มุลปัญญา¹, จุฑาทิพย์ ตีคำ¹, ทิพวรรณ ประเสริฐสินธุ์² และวิภาวรรณ นันโท²
Siddhiwasan Dolvongchantong^{1*}, Pimphaka Moonpanya¹, Juthathip Tikham¹, Tippawan Prasertsin²
and Wipawan Nunto²

¹ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57100

² โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57100

* Corresponding author E-mail: siddhiwasan@gmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) และเปลือกทับทิม (*Punica granatum*) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* จำนวน 6 เชื้อแยก (Isolates) ที่คัดแยกได้จากรอยโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนองในแมวพันธุ์พื้นเมือง 6 ตัว เชื้อแบคทีเรียที่พบป่วยทางคลินิกและมักจะลุกลามจนเป็นเหตุให้แมวเสียชีวิตได้ สารสกัดหยาบเตรียมโดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย สกัดภายใต้อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียใช้วิธี Agar disc diffusion method จำนวน 3 ซ้ำ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ด้วยวิธี Broth microdilution และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยเทคนิค Streak plate ผลที่ได้พบว่า เปลือกทับทิมให้ผลได้ร้อยละ (Percentage yield) สูงสุด เท่ากับ 34.00 (w/w) ของปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ ในขณะที่ใบสาบเสือให้ผลได้ร้อยละเท่ากับ 10.38 (w/w) การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 250 mg/ml และ 500 mg/ml พบว่า สารสกัดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยที่ความเข้มข้น 500 mg/ml สารสกัดหยาบเปลือกทับทิมและใบสาบเสือให้ขนาดวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 14.33 ± 0.91 และ 7.00 ± 0.69 มิลลิเมตร (mm.) ตามลำดับ แต่ต่ำกว่ายาปฏิชีวนะ Gentamicin (18.28 ± 0.75 mm.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [One-way ANOVA; $F(2,51) = 951.19$, $p < .001$] เมื่อเปรียบเทียบรายคู่ พบว่า สารสกัดหยาบเปลือกทับทิมมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบใบสาบเสืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Post hoc Tukey HSD; $p < .001$) นอกจากนี้ พบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบเปลือกทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อได้สูงที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 mg/ml และค่า MBC เท่ากับ 7.81 mg/ml ส่วนสารสกัดหยาบใบสาบเสือมีค่า MIC เท่ากับ 7.81 mg/ml และค่า MBC เท่ากับ 62.50 mg/ml จากผลวิจัยสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบเปลือกทับทิมมีศักยภาพสูงในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ดังนั้นสามารถนำไปพัฒนาเป็นทางเลือกสำหรับรักษาโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนองในแมวได้

คำสำคัญ : ใบสาบเสือ, เปลือกทับทิม, *Staphylococcus aureus*, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย, ผิวหนังอักเสบเป็นหนองในแมว

Abstract

This experimental study compared the antimicrobial efficacy of crude extracts from Siam weed leaf (*Chromolaena odorata*) and pomegranate peel (*Punica granatum*) against six clinical isolates of *Staphylococcus aureus* obtained from local-breed cats with pyoderma. *Staphylococcus aureus* is a prevalent clinical pathogen that can lead to fatal invasive infections in felines. The crude extracts were prepared using 95% ethanol maceration at 35 °C for 24 hours. Antimicrobial susceptibility was evaluated in triplicate using the agar disc diffusion method. Additionally, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined via the broth microdilution method and streak plate technique, respectively. The extraction yield was notably higher for pomegranate peel (34.00% w/w) compared to Siam weed leaf (10.38% w/w). At concentrations of 250 and 500 mg/ml, both extracts exhibited inhibitory effects against *Staphylococcus aureus*. At 500 mg/ml, the pomegranate peel extract produced a significantly larger mean zone of inhibition (14.33 ± 0.91 mm) than the Siam weed leaf extract (7.00 ± 0.69 mm). However, both extracts demonstrated lower efficacy than the standard antibiotic, Gentamicin (18.28 ± 0.75 mm) [$F(2, 51) = 951.19, p < .001$]. A post hoc Tukey HSD test confirmed that the pomegranate peel extract was significantly more effective than the Siam weed leaf extract ($p < .001$). Furthermore, the pomegranate peel extract showed superior bactericidal potency, with an MIC of 3.90 mg/ml and an MBC of 7.81 mg/ml, whereas the Siam weed leaf extract yielded an MIC of 7.81 mg/ml and an MBC of 62.50 mg/ml. In conclusion, the pomegranate peel crude extract possesses high potential as a natural antimicrobial agent against *Staphylococcus aureus* and warrants further development as an alternative therapeutic option for feline pyoderma.

Keywords: Siam weed leaf, Pomegranate peel, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial activity, feline pyoderma

บทนำ

เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ถือเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบในแมว (Feline Dermatitis) นอกเหนือจากโรคภูมิแพ้ เช่น การแพ้อาหารหรือน้ำลายหมัด การติดเชื้อรา เช่น *Microsporum canis* ปรสิตภายนอก เช่น ไรหรือหมัด หรือ สาเหตุโน้มนำอย่างภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น โรคเอดส์แมว (Feline Immunodeficiency) แมวมักมีอาการคัน ขนร่วง ผิวหนังแดง บวม มีการอักเสบและเกิดแผลเรื้อรังจากการเกา เลีย หรือกัด จนผิวหนังบริเวณนั้นเป็นหนอง (Pyoderma) กระทบต่อคุณภาพชีวิตและพฤติกรรมของแมว (Forsythe, 2015; Vogelnest, 2012) แบคทีเรียที่พบบ่อยในแมว ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, และ *Staphylococcus felis* (Cavana et al., 2022; Costa et al., 2022) โดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ที่พบได้มากในระดับคลินิกมักจะลุกลามและมีแนวโน้มเกิดภาวะแทรกซ้อนมากขึ้น จนทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (Septicemia) หรือ ปอดอักเสบ (Pneumonia) ซึ่งเป็นสาเหตุให้แมวเสียชีวิตได้ ในทางสัตวแพทย์สาธารณสุข การติดเชื้อ *S. aureus* บางสายพันธุ์ โดยเฉพาะกลุ่มที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ เช่น MRSA (Methicillin-resistant *S. aureus*) สามารถถ่ายทอดและก่อโรค

ติดต่อระหว่างสัตว์และคนได้ (Zoonosis) (Khairullah et al., 2023; Narongpun et al., 2023; Spiliopoulou & Petinaki, 2015)

แม้ว่าจะมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพืชสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในมนุษย์ เช่น Imarenezor et al. (2020) ที่ศึกษาการใช้สารสกัดใบสาบเสือต้านเชื้อ *S. aureus* และ *Streptococcus spp.* ที่คัดแยกได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยในโรงพยาบาล ซึ่งสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญ สนับสนุนภูมิปัญญาชาวบ้านที่ใช้ใบสาบเสือในการรักษาแผลติดเชื้อ หรือ Scaglione et al. (2024) ได้นำสารสกัดจากเปลือกทับทิมไปทดสอบกับกลุ่มเชื้อดื้อยาชั้นวิกฤตในโรงพยาบาล ซึ่งรวมถึงเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากผู้ป่วยมนุษย์ พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและยังสามารถทำลายไบโอฟิล์ม (Biofilm) ที่เชื้อสร้างขึ้นเพื่อป้องกันตัวเองจากยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย

การศึกษาเชื้อที่แยกได้โดยตรงจากสัตว์เช่นสุนัขและแมว ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพืชต่างประเทศ เช่น กัวโก (*Mikania glomerata*) และ คาร์เคจา (*Baccharis trimera*) หรือ พืชอื่นๆ เช่น ฝรั่ง (*Psidium guajava*) กานพลู (*Syzygium aromaticum*) กระเทียม (*Allium sativum*) (Betoni et al., 2006) หรือศึกษาสารสกัดจากสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น โลเคนส์ (*Cladonia substellata* Vainio) (Moura et al., 2017) ในทางสัตวแพทยศาสตร์ การทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากสัตว์ป่วยจริงในพื้นที่ (Field Isolates) จึงสร้างความแตกต่างที่ชัดเจนกว่า ประกอบกับการนำพืชในท้องถิ่นที่หาได้ง่ายและไม่เสียค่าใช้จ่าย เช่น ใบสาบเสือและเปลือกทับทิม ซึ่งเป็นพืชพื้นถิ่นมาทดสอบเบื้องต้น เพื่อนำไปสู่พัฒนาเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย จะสามารถช่วยลดต้นทุนการนำเข้าตัวยาสังเคราะห์และสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสมุนไพร เป็นอีกทางเลือกที่สำคัญในการรักษาพยาบาลสัตว์

ใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) เป็นสมุนไพรที่มีชื่อเสียงด้านการสมานแผลและต้านเชื้อแบคทีเรีย อุดมไปด้วยสารกลุ่ม Phenolic และ Flavonoid ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนัง รวมถึง *S. aureus* ได้เป็นอย่างดี Hanphanphoom & Krajangsang (2016) ได้ทำการสกัดใบสาบเสียด้วยตัวทำละลายหลายชนิด และพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือ (โดยเฉพาะที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) อยู่ที่ 0.81 - 1.62 mg/ml

ในขณะที่เปลือกทับทิม (*Punica granatum*) ซึ่งมักถูกมองว่าเป็นของเหลือทิ้ง กลับมีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ทรงพลังมาก งานวิจัยล่าสุดของ Scaglione et al. (2024) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดแบบ Hydro-alcoholic จากเปลือกทับทิม มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด รวมถึง *S. aureus* โดยสารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenols) ในเปลือกทับทิมจะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแบบแปรผันตามเวลาและขนาดความเข้มข้น (Time- and dose-dependent) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยปกป้องเซลล์ผิวหนังที่อักเสบได้อีกด้วย งานวิจัยล่าสุดของ Saleh (2026) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากแผลติดเชื้อในแมว (Feline wounds) และพบว่า *S. aureus* เป็นเชื้อที่พบมากที่สุด ผู้วิจัยได้พัฒนาเจลทาแผลสูตรสมุนไพรที่มีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกทับทิมร่วมกับโรสแมรี่และฟักทอง และนำไปทดสอบรักษาแผลที่ติดเชื้อ *S. aureus* ในหนูทดลอง ผลปรากฏว่าเจลสูตร 12% สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ลดการอักเสบ และช่วยให้แผลปิดสนิท 100% ภายใน 10 วัน ซึ่งทำได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะแบบทา (Fucidin®)

ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบใบสาบเสือและเปลือกทับทิมที่สกัดได้จากพืชในพื้นถิ่น ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่คัดแยกได้จากแมวที่ป่วยเป็นโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนอง รวมถึงหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental research) ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง: ประชากรสำหรับการศึกษานี้ คือ เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. ทั้งหมด ที่สามารถแยกได้จากตัวอย่างผิวหนังของแมวที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนอง กลุ่มตัวอย่าง คือ เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างผิวหนังของแมวพันธุ์พื้นเมืองที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนอง จำนวน 6 ตัว ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย (คัดแยกได้จำนวน 6 เชื้อแยก; Isolates) ในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา คือ พฤศจิกายน 2567 ถึง กันยายน 2568 การศึกษานี้ไม่ได้ผ่านคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ เนื่องจากเป็นการเก็บตัวอย่างส่งตรวจทั่วไป ตามมาตรฐานการรักษาสัตว์โดยนายสัตวแพทย์ผู้ได้รับใบอนุญาตประกอบวิชาชีพการสัตวแพทย์ชั้น 1

เกณฑ์การคัดเข้า (Inclusion Criteria): เป็นเชื้อ *Staphylococcus* spp. ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างผิวหนังของแมวที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนองโดยนายสัตวแพทย์ และสามารถเพาะเลี้ยงรวมถึงเก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการได้

เกณฑ์การคัดออก (Exclusion Criteria): เป็นเชื้อที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ว่าเป็น *Staphylococcus* spp. หรือ เป็นเชื้อที่มีการปนเปื้อนสูงจนไม่สามารถนำมาใช้ในการทดลองได้

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย: เก็บตัวอย่างเชื้อโดยใช้เทคนิคการป้ายผิวหนังด้วยไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile cotton swab) จากแผลที่มีลักษณะการติดเชื้อชัดเจน นำก้านสำลีลงในหลอดบรรจุ เก็บหลอดตัวอย่างที่อุณหภูมิ 0 – 4 °C และนำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด นำตัวอย่างไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) คัดแยกโคโลนีที่บ่งบอกลักษณะของ *Staphylococcus* spp. นำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเลือกจำเพาะ (Selective media) คือ Mannitol Salt Agar (MSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

การยืนยันชนิดเชื้อแบคทีเรีย: ขั้นตอนการยืนยันเชื้อตามลำดับคือ (1.) ย้อมสีแกรม (Gram's stain) สังเกตลักษณะทรงกลมติดสีม่วง (แกรมบวก) จัดเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงอุ้งนูน (UVD Robots, 2023) (2.) Mannitol Salt Agar (MSA) fermentation เชื้อเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือสูง (7.5% NaCl) และเปลี่ยนสีอาหารจากสีชมพูแดงเป็นสีเหลืองเนื่องจากสามารถย่อยสลายน้ำตาลแมนนิทอลได้ (3.) ทดสอบ Catalase test โดยใช้ Hydrogen peroxide (H_2O_2) ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ถ่ายมาจากโคโลนีที่เจริญเติบโตได้ดีบน Mannitol Salt Agar แปลผลเป็นบวกเมื่อเกิดฟองอากาศทันทีที่หยด H_2O_2 บนเชื้อ และแปลผลเป็นลบเมื่อไม่เกิดฟองอากาศ การคัดแยกและยืนยันชนิดของเชื้อทุกขั้นตอนอยู่ในการควบคุมดูแลของอาจารย์ผู้เชี่ยวชาญด้านจุลชีววิทยา

การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืช: ใช้ใบสาบเสือและเปลือกทับทิมในพื้นที่อำเภอเมืองเชียงรายเป็นวัตถุดิบ (ไม่ได้ยื่นขอหมายเลขตัวอย่างพันธุ์ไม้อ้างอิง) นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดละเอียด และสกัดด้วยเอทานอล (Ethanol) 95% อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 (w/v) เขย่าใน Shaker bath ด้วยความเร็ว 120 รอบ/นาที ภายใต้อุณหภูมิ 35 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) และระเหิดด้วยเครื่อง Lyophilizer จนเป็นผงคำนวณร้อยละผลผลิต (Percentage yield; w/w) ของสารสกัดหยาบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย: จากแบคทีเรีย *S. aureus* จำนวน 6 เชื้อแยก (Isolates) ที่คัดแยกเก็บไว้และผ่านการบ่มตามขั้นตอนแล้ว ถ่ายเชื้อลงในขวดใหม่ที่ไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 4 – 6 ชั่วโมงแล้ว ปรับปริมาณเชื้อจากความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 โดยใช้

เครื่องดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) วัดให้ได้ค่าดูดกลืนแสง (Optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (nm.) ให้มีค่า OD เท่ากับ 0.08 – 0.10 โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth ซึ่งจะมีเชื้ออยู่ประมาณ 1×10^8 CFU/ml ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar disc diffusion method ทำการทดสอบเชื้อแยก (Isolate) ละ 3 ซ้ำ โดยนำ Sterile disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm. จุ่มสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 mg/ml นำไปวางบนอาหารทดสอบและบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมียาปฏิชีวนะ Gentamicin เป็นกลุ่มควบคุมผลบวก และ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ซึ่งผ่านการทดสอบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นที่ใช้ เป็นกลุ่มควบคุมผลลบ จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ หรือ ค่าวงใส (Zone of inhibition) เป็นหน่วยมิลลิเมตร (mm.)

การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ด้วยวิธี Broth microdilution: ใช้วัดความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอย่างละเอียด โดยอาศัยหลักการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแตกต่างกัน และสังเกตการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในแต่ละระดับ ทำโดยเตรียมหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อขนาด 100 ml จำนวน 13 หลอด ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient broth (NB) ใส่ลงในหลอดที่ 1 – 13 หลอดละ 1 ml จากนั้นเจือจางสารสกัดหยาบใบสบเสือ เปลือกทับทิม ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 µl/ml ทำการเจือจางสองเท่าให้ได้ความเข้มข้น 250, 125, 62.5, จนถึง 0.06 µl/ml ตามลำดับ ใช้ยา Gentamicin ความเข้มข้นเริ่มต้น 25 µl/ml ทำการเจือจางสองเท่า ให้ได้ความเข้มข้น 12.5, 6.25, จนถึง 0.006 µl/ml ตามลำดับ ใช้ปิเปตดูดสารสกัดที่เตรียมไว้เติมลงในหลอดที่ 1 หลอดละ 1 ml ผสมสารละลายให้เข้ากัน ทำการเจือจางต่อเนื่อง โดยดูดสารละลายจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 ml ไปเติมลงในหลอดที่ 2 และ ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำซ้ำตามลำดับไปจนถึงหลอดที่ 13 เมื่อผสมหลอดที่ 13 เสร็จแล้ว ดูดสารละลายออกจากหลอดที่ 13 ปริมาตร 1 ml ทิ้งไป เพื่อให้ปริมาตรในแต่ละหลอดเท่ากัน จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงในทุกหลอด โดยเติมเชื้อในปริมาตร 1 ml ต่อหลอด นำทั้งหมดไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการทดลองโดยการสังเกตความขุ่นใสของอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละหลอดและบันทึกเป็นหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยเทคนิค Streak plate: จากค่า MIC ที่ทำให้เชื้อไม่เจริญในอาหารเหลว นำมาหาค่า MBC โดยนำหลอดที่ทำการทดสอบจากการหาค่า MIC ทุกหลอดไป Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย หาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำตามขั้นตอนโดยนำหลอดจากการทดลอง MIC ที่ไม่มีความขุ่นไป Spread plate ลงบนอาหาร NA นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงและอ่านผลโดยสังเกตจานเพาะเลี้ยงเชื้อ หากไม่พบการเจริญของเชื้อจะเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อได้ บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเป็นหน่วยมิลลิกรัม/มิลลิลิตร (mg/ml)

การวิเคราะห์ข้อมูล: วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Zone of Inhibition) หรือ ค่าวงใส จากการทดสอบแบบ Disc Diffusion ที่ทำ 3 ซ้ำ ใช้สถิติเชิงพรรณนา สำหรับการหาค่าผลได้ร้อยละ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน นำขนาดวงใสยับยั้งของสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิดมาเปรียบเทียบกับ Gentamicin โดยใช้สถิติเชิงอ้างอิง One-way ANOVA ตามด้วยการทดสอบเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Post-hoc Tukey's test) เพื่อวิเคราะห์ว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านเชื้อแตกต่างจากยาปฏิชีวนะมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel และ SPSS (Version 22)

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยแยกเป็นส่วนต่างๆ ได้ดังนี้

1. ผลการสกัดสารหยาบ: พบว่าสารสกัดหยาบใบสาบเสือมีลักษณะเป็นสีเขียวเข้ม ส่วนเปลือกทับทิมเป็นสีน้ำตาลเข้ม แสดงดังภาพที่ 1 และ เปลือกทับทิมให้ผลได้ร้อยละ (Percentage yield) สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 34.00 (w/w) ของปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบใบสาบเสือและเปลือกทับทิม

(ก) ใบสาบเสือ

(ข) เปลือกทับทิม

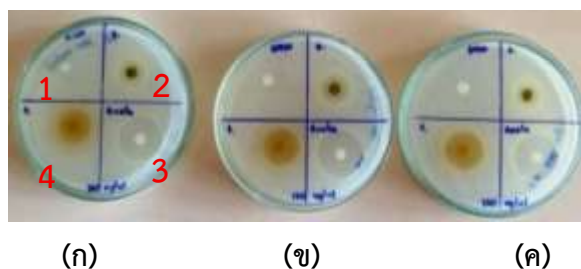
ตารางที่ 1 ผลการสกัดสารหยาบจากใบสาบเสือและเปลือกทับทิม

ชนิดสารสกัดหยาบ	ปริมาณที่ใช้สกัด (กรัม)	ปริมาณสารสกัดที่ได้ (กรัม)	ร้อยละสารสกัดที่ได้ (w/w)
ใบสาบเสือ	50	5.19	10.38
เปลือกทับทิม	50	17.00	34.00

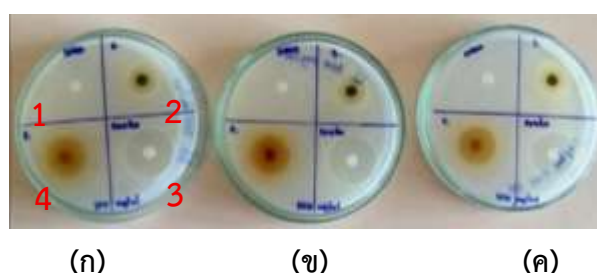
2. ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งด้วยวิธี Agar disc diffusion method: ที่ระดับความเข้มข้น 250 mg/ml พบว่าสารสกัดหยาบเปลือกทับทิม ให้ค่าเฉลี่ยวงใสมากกว่าสารสกัดหยาบใบสาบเสือ ในลักษณะเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/ml สารสกัดหยาบเปลือกทับทิมให้ค่าเฉลี่ยวงใสมากกว่าสารสกัดหยาบใบสาบเสือ เทียบกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin ดังแสดงผลในตารางที่ 2 และ ตามภาพที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งด้วยวิธี Agar disc diffusion method

สารสกัด/ตัวควบคุม	ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยวงใส (mm.)
เปลือกทับทิม	250	13.62±1.41
ใบสาบเสือ	250	7.00±1.73
Gentamicin	250	18.58±0.57
เปลือกทับทิม	500	14.33±0.91
ใบสาบเสือ	500	7.00±0.69
Gentamicin	500	18.28±0.75



ภาพที่ 2 ผลการยับยั้งของสารสกัดหยาดใบสาบเสือและเปลือกทับทิมต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 250 mg/ml (ก) คือ ซ้ำที่ 1 (ข) คือ ซ้ำที่ 2 และ (ค) คือ ซ้ำที่ 3 โดยที่ หมายเลข 1 คือ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) หมายเลข 2 คือ สารสกัดหยาดใบสาบเสือ หมายเลข 3 คือ สารสกัดหยาดเปลือกทับทิม และ หมายเลข 4 คือ ยาปฏิชีวนะ Gentamicin



ภาพที่ 3 ผลการยับยั้งของสารสกัดหยาดใบสาบเสือและเปลือกทับทิมต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 500 mg/ml (ก) คือ ซ้ำที่ 1 (ข) คือ ซ้ำที่ 2 และ (ค) คือ ซ้ำที่ 3 โดยที่ หมายเลข 1 คือ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) หมายเลข 2 คือ สารสกัดหยาดใบสาบเสือ หมายเลข 3 คือ สารสกัดหยาดเปลือกทับทิม และ หมายเลข 4 คือ ยาปฏิชีวนะ Gentamicin

3. ผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติ: จากการทดสอบความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/ml พบว่าฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดหยาดทั้ง 2 ชนิดและยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Gentamicin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 [$F(2, 51) = 951.19, p < .001$] เมื่อทดสอบความแตกต่างเป็นรายคู่ด้วยวิธี Tukey HSD พบว่า Gentamicin ($\bar{x} = 18.28 \pm 0.75$) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสูงกว่าสารสกัดหยาดเปลือกทับทิม ($\bar{x} = 14.33 \pm 0.91$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 ในขณะที่สารสกัดหยาดใบสาบเสือ ($\bar{x} = 7.00 \pm 0.69$) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อต่ำสุดเทียบกับ 2 กลุ่มที่กล่าวมาและสารสกัดหยาดเปลือกทับทิมมีประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* สูงกว่าสารสกัดหยาดใบสาบเสืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (post hoc Tukey HSD; $p < .001$) ดังแสดงผลในตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA)

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value
Between Groups	1179.15	2	589.57	951.19	< .001
Within Groups	31.61	51	0.62		
Total	1210.76	53			

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple Comparisons) ด้วยวิธี Tukey HSD

สารสกัด (I)	สารสกัด (J)	ผลต่างค่าเฉลี่ย (I-J)	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.)	ค่า Sig. (p)
ใบสาบเสือ	เปลือกทับทิม	-7.33*	0.26	< .001
	Gentamicin	-11.28*	0.26	< .001
เปลือกทับทิม	Gentamicin	-3.94*	0.26	< .001

หมายเหตุ: * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

4. ผลการทดสอบค่า MIC และ MBC: สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดจากใบสาบเสือ โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 3.90 mg/ml และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าแบคทีเรียนี้ได้ เท่ากับ 7.81 mg/ml เทียบกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin (0.19 และ 0.39 mg/ml ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบค่า MIC และ MBC

สารสกัดหยาบ/ยาปฏิชีวนะ	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
เปลือกทับทิม	3.90	7.81
ใบสาบเสือ	7.81	62.50
Gentamicin	0.19	0.39

วิจารณ์ผล

1. ผลได้ร้อยละของสารสกัดหยาบ (Percentage Yield): จากการศึกษพบว่าสารสกัดหยาบเปลือกทับทิมให้ผลได้ร้อยละสูงสุดที่ 34.00 (w/w) ซึ่งสูงกว่าใบสาบเสือที่ให้ผลได้ร้อยละ 10.38 (w/w) ความแตกต่างนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kharchoufi et al. (2018) ที่รายงานว่าเปลือกผลไม้ โดยเฉพาะเปลือกทับทิม เป็นแหล่งสะสมของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตและสารกลุ่มแทนนิน (Tannins) ที่ละลายน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดี ในปริมาณสูง ทำให้ได้น้ำหนักสารสกัดที่มากกว่าเมื่อเทียบกับส่วนใบของพืช (เช่น ใบสาบเสือ) ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลสและเส้นใย (Cellulose and Fibers) ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายเอทานอล

2. ประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*: ผลการทดสอบชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า สารสกัดหยาบเปลือกทับทิมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สูงกว่าใบสาบเสืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) โดยที่ความเข้มข้น 500 mg/ml เปลือกทับทิมให้ขนาดวงใสเฉลี่ย 14.33 mm. เทียบกับใบสาบเสือที่ 7.00 mm. นอกจากนี้ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ (MIC และ MBC) ของเปลือกทับทิมยังต่ำกว่าใบสาบเสือ (MIC 3.90 mg/ml และ MBC 7.81 mg/ml) แม้ว่าสารสกัดทั้งสองจะยังมีประสิทธิภาพต่ำกว่ายาปฏิชีวนะมาตรฐาน Gentamicin แต่ผลลัพธ์นี้ยืนยันศักยภาพของเปลือกทับทิมในฐานะสารต้านจุลชีพทางเลือก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Scaglione et al. (2024) ที่ระบุว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถทำลายเชื้อดื้อยาในกลุ่ม ESKAPE pathogens ซึ่งรวมถึง *S. aureus* ได้

3. กลไกการออกฤทธิ์ของสารพฤกษเคมี (Mechanisms of Phytochemicals): ความแตกต่างของฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเกิดจากชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ในพืชทั้งสองชนิด อภิปรายได้ว่าเปลือกทับทิมมีความเชื่อมโยงโดยตรงกับสารกลุ่ม Polyphenols โดยเฉพาะ Punicalagin และ Ellagic acid (Howell & D'Souza, 2013) โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ Punicalagin ซึ่งเป็น Hydrolyzable tannin ขนาดใหญ่คือการจับกับโปรตีนบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้ผนังเซลล์เสียสภาพ (Membrane disruption) นอกจากนี้ Ellagic acid ยังสามารถแทรกซึมเข้าสู่เซลล์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อ *S. aureus* ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียตายในที่สุดแบบ Time- and dose-dependent สำหรับใบสาบเสือ แม้จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อที่อ่อนกว่า แต่ก็แสดงผลการยับยั้งได้เนื่องจากมีสารกลุ่ม Phenolics และ Flavonoids กลไกหลักของ Flavonoids คือ การสร้างสารประกอบเชิงซ้อน (Complexes) กับโปรตีนนอกเซลล์ (Extracellular proteins) ของแบคทีเรีย (Cowan, 1999) อย่างไรก็ตาม โครงสร้างของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีชั้น Peptidoglycan หนา อาจทนทานต่อสารกลุ่มนี้ได้ดีกว่าสารกลุ่ม Tannins ที่พบในเปลือกทับทิม

4. การเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นที่มีกลุ่มสารคล้ายคลึงกัน: เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นที่ศึกษาพืชที่มีโครงสร้างสารพฤกษเคมีคล้ายคลึงกัน พบว่าให้ผลลัพธ์ไปในทิศทางเดียวกัน ตัวอย่างเช่น การศึกษาเปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana*) ซึ่งอุดมไปด้วย Tannins และ Xanthones พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบได้ดีเยี่ยมผ่านกลไกการทำลายผนังเซลล์เช่นเดียวกัน (Koh et al., 2013) ในขณะที่สารสกัดจากใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) ซึ่งมีองค์ประกอบของ Flavonoids คล้ายใบสาบเสือ มักจะแสดงค่า MIC ที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่มีองค์ประกอบของ Ellagitannins ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารกลุ่ม Tannins แบบซับซ้อน (Complex tannins) ในบริเวณเปลือกผลไม้มักมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ที่รุนแรงกว่าสารกลุ่ม Flavonoids ทั่วไปที่พบในใบพืช

5. ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาวิจัยในอนาคตและการนำไปใช้: แม้ว่าการศึกษานี้จะยืนยันศักยภาพของสารสกัดหยาบเปลือกทับทิมในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากสัตว์ป่วยจริง (Field isolates) ในระดับหลอดทดลอง (*In vitro*) แต่เพื่อให้สามารถนำไปใช้เป็นทางเลือกในการรักษาโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนองในแมว (Feline pyoderma) ทางคลินิกสัตว์แพทย์ได้อย่างเป็นรูปธรรม ควรมีการศึกษาต่อยอดในประเด็นต่อไปนี้:

5.1 การทดสอบความเป็นพิษและระดับความปลอดภัย (Cytotoxicity and Safety Tests): ก่อนนำไปใช้ในสิ่งมีชีวิต ควรมีการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ของสารสกัดหยาบ โดยทดสอบกับเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดไฟโบรบลาสต์ (Fibroblasts) หรือเซลล์ผิวหนัง เพื่อหาค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ปลอดภัย (Maximum Safe Concentration) ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือทำลายเซลล์เนื้อเยื่อปกติของสัตว์ป่วย

5.2 การพัฒนาสูตรตำรับยาทาภายนอก: สารสกัดหยาบมักมีความท้าทายในด้านความคงตัว (Stability) และการซึมผ่านผิวหนัง ดังนั้น จึงควรนำสารสกัดเปลือกทับทิมไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับทางเภสัชกรรมที่เหมาะสม เช่น เจล (Gel) ครีม (Cream) หรือขี้ผึ้ง (Ointment) ซึ่งแนวทางนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saleh (2026) ที่ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเจลทาแผลสูตรสมุนไพรที่มีสารสกัดเปลือกทับทิมเป็นองค์ประกอบหลัก และพบว่าสามารถรักษาแผลติดเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.3 การศึกษาในสิ่งมีชีวิต (*In vivo*) และการทดลองทางคลินิก: เมื่อได้สูตรตำรับที่มีความเสถียรและผ่านการทดสอบความปลอดภัยแล้ว ควรดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพการรักษาและอัตราการสมานแผลในสัตว์ทดลอง (Animal models) และพัฒนาการทดลองทางคลินิก (Clinical trials) ในแมวป่วยภายใต้การควบคุมของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ เพื่อเปรียบเทียบผลการรักษา ระยะเวลาการหายของโรค และ

ผลข้างเคียงกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน เช่น Gentamicin หรือ Fucidin® ซึ่งจะช่วยลดการนำเข้ายาสังเคราะห์และลดปัญหาการเกิดเชื้อดื้อยาในสัตว์แพทย์สาธารณสุขได้อย่างยั่งยืน

สรุปผล

การศึกษานี้สรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกทับทิม (*Punica granatum*) มีศักยภาพและประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่คัดแยกได้จากรอยโรคผิวหนังอักเสบเป็นหนองในแมว (Feline pyoderma) โดยเปลือกทับทิมให้ร้อยละผลผลิตสูงถึงร้อยละ 34.00 (w/w) และแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อที่โดดเด่นกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) ซึ่งให้ขนาดวงใสยับยั้งเชื้อเฉลี่ย 14.33 ± 0.91 มิลลิเมตร (ที่ความเข้มข้น 500 mg/ml) ตลอดจนมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ได้ดีที่สุดที่ 3.90 และ 7.81 mg/ml ตามลำดับ

แม้สารสกัดสมุนไพรทั้งสองชนิดจะมีประสิทธิภาพเป็นรองยาปฏิชีวนะมาตรฐาน (Gentamicin) แต่ข้อมูลเชิงประจักษ์จากการศึกษานี้ถือเป็นเครื่องยืนยันทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญว่า เปลือกทับทิมซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในท้องถิ่น อุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างทรงพลัง ผลลัพธ์ดังกล่าวจึงเป็นรากฐานสำคัญที่ควรค่าแก่การศึกษาต่อยอด ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมหรือตำรับยาทาภายนอกทางเลือก เพื่อยกระดับประสิทธิภาพการรักษา ลดต้นทุนการนำเข้ายา และบรรเทาปัญหาการดื้อยาด้านจุลินทรีย์ในงานสัตวแพทย์สาธารณสุขอย่างยั่งยืนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Betoni, J. E. C., Mantovani, R. P., Barbosa, L. N., Di Stasi, L. C., & Fernandes Junior, A. (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), 387–390. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762006000400007>
- Cavana, P., Robino, P., Stella, M. C., Bellato, A., Crosaz, O., Fiora, S. R., & Nebbia, P. (2022). Staphylococci isolated from cats in Italy with superficial pyoderma and allergic dermatitis: Characterisation of isolates and their resistance to antimicrobials. *Veterinary Dermatology*, 34(1), 14-21. <https://doi.org/10.1111/vde.13127>
- Costa, S. S., Ribeiro, R., Serrano, M., Oliveira, K., Ferreira, C., Leal, M., Pomba, C., & Couto, I. (2022). Staphylococcus aureus causing skin and soft tissue infections in companion animals: Antimicrobial resistance profiles and clonal lineages *Antibiotics*, 11(5), 599. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050599>
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Oct;12(4):564-82. doi: 10.1128/CMR.12.4.564. PMID: 10515903; PMCID: PMC88925.
- Forsythe, P. (2015). Feline pyoderma. In *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*. URL: <https://www.vin.com/doc/?id=7259268>

- Hanphanphoom, S., & Krajangsang, S. (2016). Antimicrobial activity of *Chromolaena odorata* extracts against bacterial human skin infections. *Modern Applied Science*, 10(2), 159. <https://doi.org/10.5539/mas.v10n2p159>
- Howell, A. B., & D'Souza, D. H. (2013). The pomegranate: Effects on bacteria and viruses that influence human health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 606212. <https://doi.org/10.1155/2013/606212>
- Imarenezor, E. P. K., Ebuara, F. U., Abhadionmhen, O. A., Brown, S. T. C., & Isaac, K. (2020). Antimicrobial effects of *Chromolaena odorata* leaves on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* spp. isolates from urine of patients attending general hospital, Wukari, North East Nigeria. *Global Scientific Journal*, 8(9), 1183–1195.
- Khairullah, A., Sudjarwo, S., Effendi, M., Ramandinianto, S., Gelolodo, M., Widodo, A., Riwu, K., & Kurniawati, D. (2023). Pet animals as reservoirs for spreading methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to human health. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 10(1), 1-10. <https://doi.org/10.5455/javar.2023.j641>
- Kharchoufi, S., Licciardello, F., Siracusa, L., Muratore, G., Hamdi, M., & Restuccia, C. (2018). Antimicrobial and antioxidant features of 'Gabsi' pomegranate peel extracts. *Industrial Crops and Products*, 111, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.037>
- Koh, J. J., Qiu, S., Zou, H., Lakshminarayanan, R., Li, J., Zhou, X., Tang, C., Saraswathi, P., Verma, C., Tan, D. T. H., Tan, A. L., Liu, S., & Beuerman, R. W. (2013). Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1828(2), 834-844. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.09.004>
- Moura, J. B., Vargas, A. C., Gouveia, G. V., Gouveia, J. J. S., Ramos-Júnior, J. C., Botton, S. A., Pereira, E. C., & Costa, M. M. (2017). In vitro antimicrobial activity of the organic extract of *Cladonia substellata* Vainio and usnic acid against *Staphylococcus* spp. obtained from cats and dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(4), 368–378. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000400010>
- Narongpun, P., Chanchaithong, P., Yamagishi, J., Thapa, J., Nakajima, C., & Suzuki, Y. (2023). Whole-genome investigation of zoonotic transmission of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex 398 isolated from pigs and humans in Thailand. *Antibiotics*, 12(12), 1745. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121745>
- Saleh, M. M., & Ibrahim, O. M. S. (2026). New gel formulation for treating wounds infected with common bacteria isolated from feline wounds in rats. *Open Veterinary Journal*, 16(1), 175–188. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2026.v16.i1.17>

- Scaglione, E., Sateriale, D., Mantova, G., Di Rosario, M., Continisio, L., Vitiello, M., Pagliarulo, C., Colicchio, R., Pagliuca, C., & Salvatore, P. (2024). Antimicrobial efficacy of *Punica granatum* Lythraceae peel extract against pathogens belonging to the ESKAPE group. *Frontiers in Microbiology*, 15, Article 1383027. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383027>
- Spiliopoulou, I., & Petinaki, E. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection risks from companion animals: Current perspectives. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 6, 373-382. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s91313>
- Vogelnest, L. J. (2012). Feline superficial pyoderma: a retrospective study of 52 cases (2001–2011). *Veterinary Dermatology*, 23(5), 448–e86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01085.x>