การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. ของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

The Study of Inhibitory Effect of Acetic Acid, Vinegar and Hydrogen Peroxide Against *Candida* spp.

อารินี ชัชวาลชลธีระ[1] จีระศักดิ์ ถิรธนบูรณ์[2] เรืองทอง กิจเจริญปัญญา[1] พิสิทธิ์ สุวรรณโชติ[2]
ธนิกุล ศรีธัญรัตน์[3] พรพลอย ทองจุไร[3] รังสิยา สุวรรณธรรมา[3]
Arinee Chatchawanchonteera[1] Jeerasak Thiratanaboon[2] Ruangthong Kitcharoenpunya[1]
Pisit Suwannachot[2] Thanikul Srithunyarat[3] Pornploy Thongjurai[3] Rangsiya Suwannathamma[3]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. ของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชูและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในห้องปฏิบัติการ โดยการเตรียมสารกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคีโตโคนาโซล ความเข้มข้นลดลง 2 เท่าตามลำดับในไมโครเพลท และทดสอบกับเชื้อ *Candida* spp. 6 ไอโซเลต ด้วยวิธี microdilution broth method โดยมีคีโตโคนาโซลเป็นตัวควบคุม ซึ่งผลการศึกษาพบว่ากรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคีโตโคนาโซลให้ผลการยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคีโตโคนาโซล มีค่า 6.34, 6.16, 0.33 และ ≥0.0046 มก./มล. ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MFC) มีค่า 9.81, 8.25, 0.52 และ ≥0.0089 มก./มล. ตามลำดับ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคีโตโคนาโซลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงกว่ากรดน้ำส้มและน้ำส้มสายชูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

คำสำคัญ: กรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ *Candida* spp.

Keywords: acetic acid, vinegar, hydrogen peroxide, *Candida* spp.

[1] ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
[2] ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
[3] นักศึกษาสัตวแพทยศาสตร์ชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
6th Year Veterinary Student, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

Abstract

Acetic acid, vinegar and hydrogen peroxide were tested in vitro to evaluate the inhibitory effect against *Candida* spp., with ketoconazole as a control. Acetic acid, vinegar, hydrogen peroxide and ketoconazole were diluted two fold serial dilutions in microplate and tested against 6 isolates of *Candida* spp. by microdilution broth method. The result showed that *Candida* spp. were inhibited by acetic acid, vinegar, hydrogen peroxide and ketoconazole. Minimal inhibitory concentrations of acetic acid, vinegar, hydrogen peroxide and ketoconazole were 6.34, 6.16, 0.33 and ≥0.0046 mg/ml, respectively. And minimal fugicidal concentrations were 9.81, 8.25, 0.52 and ≥ 0.0089 mg/ml respectively. In this experiment, hydrogen peroxide and ketoconazole had higher inhibitory effect than acetic acid and vinegar significantly ($p<0.001$).

บทนำ

Candida spp. เป็นเชื้อยีสต์ที่มีมากกว่า 200 สปีชีส์ (Quinn et al., 2002) เช่น *Candida albicans, Candida tropicalis* และ *Candida krusei* เป็นต้น แต่สปีชีส์ที่สำคัญที่ก่อโรคในสัตว์ คือ *Candida albicans* ซึ่งมีรูปร่างรี ขนาด 3.5-6 x 6-10 ไมโครเมตร ไม่มีแคปซูลหุ้ม มีคุณสมบัติทางสรีรวิทยา เช่น สามารถสร้าง pseudohyphae, germ tube และ chlamydospore เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-37 องศาเซลเซียส และถูกทำลายได้ด้วยความร้อนมากกว่า 50 องศาเซลเซียส โดยปกติจะพบเชื้อนี้ได้ที่บริเวณเยื่อบุเมือกโดยเฉพาะทางเดินอาหารและอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก เมื่อร่างกายสัตว์เกิดภาวะภูมิคุ้มกันถูกกด ภาวะเครียด การใช้ยาปฏิชีวนะระยะยาว หรือภาวะขาดสารอาหาร จะเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคขึ้น (Biberstein, 1999)

กลไกการก่อโรคในสัตว์ของเชื้อ *C. albicans* เกิดจากผลของ proteases และ neuraminidases นอกจากนี้ไกลโคโปรตีนที่ผนังเซลล์มีคุณสมบัติคล้าย endotoxin (Hirsh et al., 2004) การก่อโรคในสัตว์ของเชื้อ *Candida* ได้แก่ thrush ที่ปาก หลอดอาหาร และกระเพาะพักในสัตว์ปีก แผลหลุมในกระเพาะอาหารลูกม้า โรคระบบสืบพันธุ์ในแม่ม้า โรคทางเดินหายใจ โรคระบบสืบพันธุ์ และเต้านมอักเสบในโค ลำไส้และปากอักเสบในลูกแมว หนองในช่องอกในแมวโต โรคระบบสืบพันธุ์ในสุนัข และช่องปากอักเสบในลูกสุนัข (Quinn et al., 1994) และในลูกสุกรอาจพบรอยโรคเป็นแผลเปื่อยในกระเพาะอาหาร (Hirsh and Zee, 1999)

สำหรับการรักษา candidiasis อาจใช้ยาต้านเชื้อรา amphotericin B, ketoconazole, itraconazole หรือการใช้ prednisolone เพื่อลดอาการคัน ซึ่งการใช้ยาเหล่านี้ต้องใช้เป็นระยะเวลานาน ราคาแพง มีผลข้างเคียง และสามารถกลับมาเป็นได้อีก ดังนั้น ปัจจุบันได้มีการศึกษาเพื่อหาทางเลือกใหม่ เช่น การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแทน สารเคมีที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ใช้ฆ่าเชื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ สถานที่

โรงเรือน ยานพาหนะทางสัตวแพทย์มีหลายชนิด ได้แก่ acid, alkalis, alcohols, aldehydes, halogen, phenol และ quaternary ammonium compounds ซึ่งไม่มีสารใดที่มีคุณสมบัติที่ดีครบถ้วน การเลือกใช้จึงขึ้นกับความไวของเชื้อแต่ละชนิดต่อสารเคมีแต่ละชนิด นอกจากนั้น ต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพ ความไวที่จะถูกทำลายฤทธิ์โดยสารอินทรีย์ หรือความเป็นพิษต่อสัตว์ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ ภาวะสารตกค้าง ฤทธิ์การกัดกร่อน ผลต่อสิ่งแวดล้อม และราคา (Quinn et al., 2002) กรดน้ำส้ม หรือที่เรียกกันตามระบบว่า กรดอะซิติกหรือกรดเอทาโนอิก เป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชู มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นฉุน มีลักษณะเป็นผลึกใสหรือของเหลวใส มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนเมื่อละลายน้ำ โดยไอของกรดนั้นสามารถทำให้ตาและจมูกระคายเคืองได้ กรดน้ำส้มมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อของ *Pseudomonas* spp. ที่ผิวหนังและหู (Wanamaker and Pettes, 2000) นอกจากนั้นกรดน้ำส้มยังเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหู ซึ่งจะขจัดเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ทำให้รูหูแห้งสะอาด และเปลี่ยนสภาพความเป็นกรดด่าง ทำให้สภาพแวดล้อมภายในรูหูไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพ และมีรายงานว่ากรดน้ำส้ม 0.5% ร่วมกับกรดบอริก 0.5% จะทำให้มีฤทธิ์ในการฆ่า *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas* spp. และ *C. albicans* แต่ถ้าใช้กรดบอริก 0.5% เพียงอย่างเดียวจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพดังกล่าว (Benson, 1998)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับกรดน้ำส้ม เช่น กรดน้ำส้มมีฤทธิ์ในการต้านได้ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา (Benson, 1998; Gotthelf and Young, 1997; Rhee et al., 2003) โดยมีรายงานผลการใช้กรดน้ำส้ม 0.5% ผสมในแป้งมัสตาร์ด ซึ่งให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* (Rhee et al., 2003) และผลการใช้กรดน้ำส้มและกรดบอริกในห้องปฏิบัติการที่มีผลต่อจุลชีพที่แยกได้จากช่องหูส่วนนอกที่มีการอักเสบของสุนัข ซึ่งมีผลต่อทั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น *S. intermedius* และ *Pseudomonas aeruginosa* และเชื้อรา เช่น *Malassezia pachydermatitis* และ *C. albicans* พบว่าการใช้กรดบอริก 5.0% ผสมกับกรดน้ำส้ม 0.5% เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. intermedius* และกรดบอริก 3.5% ผสมกับกรดน้ำส้ม 0.5% เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *C. albicans* ได้ (Benson, 1998) นอกจากนี้มีรายงานผลการรักษาโรคช่องหูอักเสบจากเชื้อมาลาสเซเซียในสุนัขด้วยกรดน้ำส้มและกรดบอริก โดยผลของกรดน้ำส้ม 2% กับกรดบอริก 2% จะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อมาลาสเซเซีย (Malassezia) ทำให้เชื้อมาลาสเซเซียลดจำนวนลงหรือหมดไปภายใน 7 วัน (Gotthelf and Young, 1997)

น้ำส้มสายชู มีส่วนประกอบของกรดน้ำส้ม 3-5% (Plumb, 2005) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่หาซื้อง่าย ราคาถูก และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เช่น การปรุงรสชาดอาหาร ช่วยสลายไขมันและลดน้ำหนัก เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง และมีฤทธิ์ในการยับยั้งและทำลายจุลชีพ นอกจากนี้พบว่าน้ำส้มสายชูมีฤทธิ์ยับยั้งและทำลายเชื้อ *Candida* spp. ไม่ว่าจะใช้เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับสารอื่นในการรักษา candidiasis (Svenson et al., 2002)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารประกอบ peroxygen เป็น oxidizing agent ที่ดีและมีฤทธิ์ต้านจุลชีพในวงกว้าง สามารถฆ่าแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส เป็นน้ำยาที่มีคุณสมบัติทั้งชะล้างแผล

และทำลายสปอร์ โดยให้ผลดีกับจุลชีพที่ไม่ต้องการออกซิเจน มีรายงานการศึกษาผลการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการยับยั้งและทำลายเชื้อ โดย Pericone et al. (2000) พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งสร้างจากเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* มีฤทธิ์ยับยั้งและทำลายเชื้อในทางเดินหายใจตอนบนของมนุษย์ และ Fitzgerald et al. (2001) พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีผลต่อจุลชีพในช่องปากรวมทั้งเชื้อ *C. albicans* ด้วย

คีโตโคนาโซลเป็นยาต้านเชื้อรากลุ่ม imidazole ที่ออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์โดยยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันโดยเฉพาะ ergosteral ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ในเชื้อรา (Katzung, 1984) ใช้รักษาโรคติดเชื้อรา candidiasis นอกจากนี้ยังใช้รักษาโรค hyperadrenocorticism ได้ (วรา และคณะ, 2546)

เนื่องจากกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพหลายชนิด เป็นสารที่หาซื้อง่ายและราคาไม่แพง ในขณะที่ยาต้านเชื้อรามีราคาแพงและมีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. ของกรดน้ำส้มโดยไม่มีกรดบอริก น้ำส้มสายชู และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมกรดน้ำส้ม 5%

วิธีเตรียมสารละลายกรดน้ำส้ม 5% โดยผสมกรดน้ำส้ม (Riedel-de Haen, Germany) 5 มล. ในน้ำกลั่น 95 มล. เพื่อให้ได้สารละลายกรดน้ำส้ม 5% จากนั้นนำมากรองด้วยหัวกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร ในภาชนะปลอดเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

การเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.25%

การเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.25% โดยการเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1% (VWR International Ltd., Poole, England) แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.25% จากนั้นนำมากรองด้วยหัวกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร ในภาชนะปลอดเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

การเตรียมน้ำส้มสายชู

การเตรียมน้ำส้มสายชู โดยนำน้ำส้มสายชู (อสร. ประเทศไทย) มากรองด้วยหัวกรองเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร ลงในภาชนะปลอดเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ

การเตรียมเชื้อ *Candida* spp.

เตรียมเชื้อ *Candida* spp. ทั้งหมด 6 isolates ได้แก่ *C. albicans* 3 isolates, *C. albicans* (ATCC 10231) 1 isolate, *C. tropicalis* 1 isolate และ *C. krusei* 1 isolate จากนั้นนำเชื้อทั้งหมดมาเพาะเลี้ยงใน Sabouraud dextrose broth ให้มีอายุ 1 วัน แล้วนำมาเตรียมใน normal saline ให้ได้ความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland จากนั้นเจือจาง 1: 100 ใน Sabouraud dextrose broth ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $1x10^6$ CFU/ml

วิธีการทดสอบ

เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose broth ปริมาตร 50 ไมโครลิตร/หลุม ลงในไมโครเพลท โดยเติมสารละลายกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ลงในหลุมที่ 1 ของแต่ละแถว ทำการเจือจาง 2 เท่าตามลำดับ จากหลุมที่ 1 จนถึงหลุมที่ 6 โดยความเข้มข้นของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู เริ่มจาก 25-0.78 mg/ml และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เริ่มจาก 1.25-0.04 mg/ml สำหรับคีโตโคนาโซลเริ่มจากความเข้มข้น 0.01-0.0003 mg/ml จากนั้นเติมเชื้อ *C. albicans* isolate ที่ 1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตรทุกหลุม โดยหลุมที่ 7 และ 8 ของแต่ละแถวเป็นหลุมควบคุมผลบวกและผลลบ ตามลำดับ ซึ่งประกอบด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อกับเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว ตามลำดับ สำหรับ *C. albicans* isolate ที่ 2 และ 3, *C. albicans* (ATCC 10231), *C. tropicalis* และ *C. krusei* ทำการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น

จากนั้นนำไมโครเพลทไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง แล้วอ่านผลการยับยั้งโดยพิจารณาจากระดับความขุ่น แล้วนำสารละลายในแต่ละหลุมที่ให้ผลยับยั้งไปเพาะเลี้ยงเชื้อบน Sabouraud dextrose agar (Difco, USA) ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง แล้วจึงอ่านผลการเจริญของเชื้อ *Candida* spp. จากแต่ละหลุม การทดลองนี้ทำการทดลอง 6 ซ้ำ แล้วบันทึกผล

การอ่านผลการทดลอง

การอ่านผลการยับยั้งเชื้อ พิจารณาจากความขุ่นโดยเปรียบเทียบกับหลุมควบคุมผลบวกซึ่งขุ่น 100% การอ่านผลควบคุมโดยผู้อ่านคนเดิม และใช้เกณฑ์

ผลบวก = ใส หรือ ขุ่น น้อยกว่า 50% ของหลุมควบคุม

ผลลบ = ขุ่น มากกว่า 50% ของหลุมควบคุมหรือเท่ากับหลุมควบคุม

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยใช้เชื้อ *Candida* spp. 6 isolates โดยแต่ละเชื้อทำการทดลอง 4 ทรีทเมนต์ ได้แก่ กรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคีโตโคนาโซล แต่ละทรีทเมนต์ ทำการทดลอง 6 ซ้ำ แล้วบันทึกผลระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA), DUNCAN และ orthogonal contrast

ผลการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) เชื้อ *Candida* spp. ของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคีโตโคนาโซล มีค่า 6.34, 6.16, 0.33 และ 0.0046 mg/ml ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ (minimal fungicidal concentration, MFC) มีค่า 9.81, 8.25, 0.52 และ 0.0089 mg/ml ตามลำดับ (Table 1)

การวิเคราะห์ครั้งนี้แบ่งสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ Candida เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ กรดน้ำส้ม และน้ำส้มสายชู กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคีโตโคนาโซล ผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มที่ 1 (กรดน้ำส้มและน้ำส้มสายชู) ให้ค่า MIC และ MFC สูงกว่า กลุ่มที่ 2 (ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคีโตโคนาโซล) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) แต่ไม่พบความแตกต่างภายในแต่ละกลุ่ม ($p>0.05$) นั่นคือกรดน้ำส้มให้ผลไม่แตกต่างจากน้ำส้มสายชู และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ผลไม่แตกต่างจากคีโตโคนาโซล

Table 1 Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of acetic acid, vinegar, hydrogen peroxide and ketoconazole against *Candida* spp.

Agents	MIC (mg/ml)	MFC (mg/ml)
Acetic acid	$6.34^{a} \pm 0.69$	$9.81^{a} \pm 2.60$
Vinegar	$6.16^{a} \pm 0.83$	$8.25^{a} \pm 2.95$
Hydrogen peroxide	$0.33^{b} \pm 0.16$	$0.52^{b} \pm 0.19$
Ketoconazole	$0.0046^{b} \pm 0.0029$	$\geq 0.0089^{b} \pm 0.0017$

Different superscript indicates statistical difference ($p<0.001$)

สรุปและวิจารณ์

ในการทดลองครั้งนี้พบว่ากรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชู ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และคีโตโคนาโซล มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. โดยกรดน้ำส้มกับน้ำส้มสายชูให้ผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งไม่แตกต่างกัน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ผลไม่แตกต่างกับคีโตโคนาโซล

ในทางการแพทย์พบว่ากรดบอริกมีประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อราหลายชนิดในคน โดยเฉพาะโรคหูอักเสบและการติดเชื้อยีสต์ที่ช่องคลอด ส่วนกรดน้ำส้มมีฤทธิ์ในการต้านได้ทั้งแบคทีเรีย เช่น *E. coli* O157:H7, *L. monocytogene* และเชื้อรา และมีประโยชน์ต่อการรักษาหูอักเสบเนื่องจากเชื้อ Pseudomonas และ Malassezia รวมถึง canine cutaneous Malassezia (Gotthelf and Young,

1997; Benson, 1998; Rhee et al., 2003) นอกจากนี้ส่วนผสมของกรดบอริก และกรดน้ำส้มสามารถยับยั้งโรคหูอักเสบที่เกิดจากเชื้อราในคน เช่น *Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Absidia corymbifera, Penicillium nigricans* และ *Candida albicans* ส่วนในสุนัข ใช้เป็นน้ำยาล้างหูได้ผลในการรักษา otitis externa ที่เกิดจากเชื้อมาลาสเซเซียในสุนัขภายใน 7 วัน (Gotthelf and Young, 1997; Bassett et al., 2004)

กลไกการออกฤทธิ์ของกรดน้ำส้มและน้ำส้มสายชูต่อจุลชีพ พบว่ากรดน้ำส้มมีคุณสมบัติในการสลายเคอราติน ต้านแบคทีเรีย โดยความเข้มข้น 2% สามารถฆ่าเชื้อ Staphylococcus, Streptococcus ภายใน 5 นาที และฆ่าเชื้อ Pseudomonas ได้ใน 60 วินาที นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา (Melman, 1997) มีการศึกษาในผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องร่วมกับ seborrheic dermatitis ซึ่งเกิดจากติดเชื้อ Malassezia และทำการรักษาด้วยสารละลายกรดน้ำส้มและกรดบอริก พบว่าสารทั้งสองจะขจัดสารที่จำเป็นในขบวนการเมตาบอลิซึมและผลผลิตจากเชื้อ Malassezia ทำให้ลดการอักเสบและคัน โดยกรดบอริกทำให้ช่องหูแห้ง มีผลรบกวน hydrophilic chemoattractant cytokine โดยเชื้อจะสร้าง chemotactic factor ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและทนต่อกรด มีผลต่อเม็ดเลือดขาว เช่น นิวโทรฟิล และมีส่วนสำคัญที่ทำให้เมื่อติดเชื้อจะทำให้เกิดการอักเสบและคัน (Gotthelf and Young, 1997) ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวออกซิไดซ์อย่างรุนแรง ซึ่งมีผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอินทรีย์ จึงมีการนำมาใช้เป็นสารทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคที่ผิวหนัง ใช้ในทางเภสัชกรรมทำน้ำยาบ้วนปากและน้ำยาฆ่าเชื้อ สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของคีโตโคนาโซลจะมีผลรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์โดยยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันโดยเฉพาะ ergosteral ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ในเชื้อรา (วรา และคณะ, 2546)

แม้ว่าสารทั้งสี่ชนิดจะให้ผลการยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. ค่อนข้างดี แต่สารเหล่านี้ก็มีผลข้างเคียงและข้อเสียบางประการที่ควรคำนึงถึงก่อนนำไปใช้ เช่น น้ำส้มสายชูได้มีการรายงานว่าเมื่อนำไปใช้ในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดการติดเชื้อยีสต์ จะมีกลิ่นฉุนติดตัวสัตว์ ซึ่งเป็นกลิ่นที่เจ้าของสัตว์ส่วนใหญ่ไม่พึงประสงค์ (Gottelf and Young, 1997) การใช้กรดน้ำส้มในความเข้มข้นสูงเกิน 10-25% (Plumb, 2005) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะมีความระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเนื้อเยื่ออ่อนในช่องหู และบริเวณเยื่อเมือก ทำให้ผิวหนังไหม้ ตาเสียหายอย่างถาวร ส่วนคีโตโคนาโซลถึงแม้จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแต่ไม่สามารถใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อตับ ไต กดการสังเคราะห์สารสเตียรอยด์จากต่อมหมวกไต (Katzung, 1984) และมีราคาแพง

สำหรับการศึกษาในห้องปฏิบัติการนี้ พบว่ากรดน้ำส้มโดยไม่มีส่วนผสมของกรดบอริกก็สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida* spp. ได้ และน้ำส้มสายชูที่ใช้กันในครัวเรือนให้ผลไม่แตกต่างจากกรดน้ำส้ม รวมทั้งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็ให้ผลที่ไม่แตกต่างจากคีโตโคนาโซล ซึ่งจากข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาการใช้ในทางคลินิกต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อในช่องหูซึ่งทำให้เกิดช่องหูอักเสบ หรือโรคอื่นๆ ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Candida* spp. ในสัตว์ต่อไป อย่างไรก็ตาม การใช้สารดังกล่าวเป็นเพียงทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้แทนการใช้ยาต้านเชื้อรา

ซึ่งมีราคาแพง ใช้เวลาในการรักษานาน และมีผลข้างเคียงจากการใช้ยา ซึ่งการนำไปใช้รักษาโรคในสัตว์ รวมทั้งการศึกษาผลข้างเคียงในสัตว์ยังควรต้องมีการศึกษาในระดับต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา หัวหน้าภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้คำปรึกษาและช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ผศ.น.สพ.ปรีณัน จิตะสมบัติ หัวหน้าภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ และผศ.ดร.อนันตชัย ชัยยศวิทยากุล ผู้อำนวยการโรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับความอนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ผศ.น.สพ.เอกชัย ภัทรพันธ์วิเชียร หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา สำหรับการอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการทดลอง และ คุณอรุณี บุตรตาสี ที่ช่วยเตรียมและอำนวยความสะดวกในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

วรา พานิชเกรียงไกร ศิรินทร หยิบโชคอนันต์ และปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย. 2546. คู่มือยา A To Z สำหรับสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ตีรณสาร. กรุงเทพมหานคร. 482 หน้า.

Bassett, R.J., Burton, G.G., Robson, D.C. and Hepworth, G. 2004. Efficacy of an acetic acid/boric acid ear cleaning solution for treatment and prophylaxis of *Malassezia sp.* otitis externa. Aust Vet Practit. 34: 79-82.

Benson, C.E. 1998. Susceptibility of selected otitis externa pathogens to individual and mixtures of acetic and boric acids. 14th Annual Members Meeting Proc of the Ann. Meeting Amer. Acad. Vet. Dermatol. & Amer. Coll. Vet. Dermatol. Texas. pp. 121-122.

Biberstein, E.L. 1999. Candida. In: Veterinary Microbiology. D.C. Hirsh and Y.C.Zee (eds). Black Well Science, Inc. Massachusetts. pp. 109-112.

Fitzgerald, J.A., Flennoy, N.J. and Gerlach, R.W. 2001. Comparative in vitro Antimicrobial Activity of Peroxide Gels in Strip or Tray Bleaching Systems. Procter & Gamble company. Ohio. 356 p.

Gotthelf, L.N. and Young, S.E. 1997. New treatment of Malassezia otitis externa in dogs. Vet Forum. 14: 47-53.

Hirsh, C.D., MacLachlan, N.J. and Walker, R.L. 2004. Veterinary Microbiology.2nd ed. Blackwell Publishing . 536 p.

Hirsh, C.D. and Zee, Y.C. 1999. Veterinary Microbiology. Black Well Science, Inc. 479 p.

Katzung, B.G. 1984. Basic and Clinical Pharmacology. 2nd ed. Lange Medical Publication. California. pp. 560-561.

Melman, A.S. 1997. Shampoo therapy: DERMAPET. August 28, 2006, http://www.dermapet.com/articles/art-02.html

Pericone, C.D., Overweg, K., Hermans, P.W.M. and Weiser, J.N. 2000. Inhibitory and bactericidal effect of hydrogen peroxide production by *Streptococcus pneumoniae* on other inhabitants of the upper respiratory tract. Infect Immun. 68(7): 3990-3997.

Plumb, D.C. 2005. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 5th edition. Blackwell Publishing Professional. Iowa. 1311 p.

Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science Ltd. 536 p.

Quinn, P.S., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby-Year Book Europe Limited. Spain. 648 p.

Rhee, M., Lee, S., Dougherty, R.H. and Kang, D. 2003. Antimicrobial effects of mustard flour and acetic acid against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar typhimurium. Appl Environ Microbiol. 69(5): 2959-2963.

Svenson, A., Morris, R., Srikantha, R. and Vargas, K. 2002. Antimicrobial effect of vinegar on *Candida* species. IADR/AADR/CADR 80th General session (March 6-9, 2002). Iowa. 2229 p.

Wanamaker, B.P. and Pettes, C.L. 2000. Applied Pharmacology for the Veterinary Technician. 2nd ed. W.B. Saunders Company. Missouri. 405 p.