บทวิทยาการ
Original Article

ศักยภาพในการต้านเชื้อราของนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดที่ผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

รพีพรรณ นาคะสิริ
รองศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ชลธิชา อมรฉัตร
รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
วรนัติ วีระประดิษฐ์
รองศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
แสงชัย โอฬารฤทธินันท์
อธิป วงศ์ฟูเฟื่องขจร
สุทธีรา ตันอาวัชนการ
นักศึกษาทันตแพทย์ปีที่ 4
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงรพีพรรณ นาคะสิริ
ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนโยธี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
อีเมล: dtrng@mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการต้านเชื้อราในช่องปากสายพันธุ์ แคนดิดาอัลบิแคนส์ ของการใช้นิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดที่มีขายตามท้องตลาดผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในช่วงระยะเวลา 7 วัน เตรียมชิ้นทดสอบรูปดิสค์ที่มีส่วนผสมของจีซีซอฟไลเนอร์และนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร หนา 2 มิลลิเมตร โดยมีนิสเททินผสมอยู่ 0.6 กรัม และ 0.8 กรัม (3 และ 4 เท่า ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ) และมีชิ้นทดสอบที่ไม่ผสมนิสเททินเป็นกลุ่มควบคุม หยดเชื้อความเข้มข้น 10^5 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงบนชิ้นทดสอบเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างเชื้อออกเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงหาปริมาณเชื้อที่เหลืออยู่หลังการสัมผัสกับชิ้นทดสอบ ทำการศึกษาฤทธิ์การฆ่าเชื้อของชิ้นทดสอบชิ้นเดิมเป็นระยะคือ ในวันที่ 0, 3 และ 7 คำนวณค่าออกมาเป็นร้อยละของเชื้อที่ลดลงและร้อยละของชิ้นทดสอบที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ของแต่ละช่วงเวลา โดยใช้ปริมาณเชื้อของกลุ่มควบคุมเป็นเชื้อตั้งต้น ผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 3,570 ยูนิตต่อกรัมของส่วนผสม กลุ่มของจีซีซอฟไลเนอร์ที่ผสมนิสเททิน 0.6 กรัม ภายหลังการเตรียมในวันที่ 0, 3 และ 7 พบว่าสามารถลดเชื้อได้ ร้อยละ 99.9, 99.7 และ 99.6 ตามลำดับ และร้อยละของชิ้นทดสอบที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์เท่ากับ ร้อยละ 91.7, 66.1 และ 47.2 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ผสมนิสเททิน 0.8 กรัม ภายหลังการเตรียมในวันที่ 0, 3 และ 7 พบว่าสามารถลดเชื้อได้ร้อยละ 100, 99.9 และ 99.4 ตามลำดับ และมีความสามารถในการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ได้ดีกว่า คือร้อยละ 95, 75 และ 66.1 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบว่าการผสมนิสเททิน 0.8 กรัม อาจมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ สรุปว่านิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดเมื่อผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อจีซีซอฟไลเนอร์ สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้อย่างมาก แม้ว่าจะไม่สมบูรณ์ตลอดระยะเวลาศึกษา 7 วัน ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการนำนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดมาใช้ผสมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในการรักษาผู้ป่วยที่มีการอักเสบใต้ฐานฟันเทียมเนื่องจากการติดเชื้อราแคนดิดา

บทนำ

โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียม (denture induced stomatitis) พบได้บ่อยในคนที่ใส่ฟันเทียมถอดได้ที่มีฐานฟันเทียมไม่พอดี (ill-fitting denture) หลวมหรือกระดก ทำให้เกิดมีการระคายเคืองและอักเสบของเนื้อเยื่ออ่อนใต้ฐานฟันเทียม โดยพบว่าเชื้อรา

แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดรอยโรค[1] ซึ่งมีลักษณะของเยื่อเมือกที่บวมแดงและมักพบบ่อยบริเวณเพดานปากแต่ไม่ค่อยพบบริเวณขากรรไกรล่าง การรักษาโดยการเสริมฐานฟันเทียมด้านที่ติดกับเนื้อเยื่อด้วยวัสดุรองพื้นอย่างอ่อนชนิดระยะสั้น (short-term) หรือที่เรียกว่าวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ (tissue conditioner) ช่วยทำให้ฟันเทียมแนบกับสันเหงือกและแน่นกระชับใส่สบาย ขณะเดียวกันก็ช่วยทำให้เนื้อเยื่อที่อักเสบหรือบาดเจ็บมีการหายของแผลและปรับสภาพเนื้อเยื่อในช่องปากให้กลับสู่สภาพปกติและมีสุขภาพดีอีกครั้ง[2,3] ทั้งนี้เนื่องจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีลักษณะทั้งอ่อนนุ่มและยืดหยุ่นอยู่ในตัว ซึ่งโดยปกติจะมีอายุการใช้งานประมาณ 1 สัปดาห์[4] เนื่องจากวัสดุจะสูญเสียความนุ่มและยืดหยุ่นเปลี่ยนเป็นแข็งขึ้นเรื่อย ๆ ในระยะเวลาอันสั้น ดังนั้นจึงควรเปลี่ยนวัสดุเสียใหม่

ยาต้านเชื้อราเฉพาะที่ที่ใช้ในการรักษาโรคปากอักเสบเหตุฟันเทียมมีหลายชนิด[5,6] เช่น นิสเททิน (nystatin) ไมโคนาโซล (miconazole) แอมโฟเทริซิน บี (amphotericin B) ฟลูโคนาโซล (fluconazole) คีโทโคนาโซล (ketoconazole) อิทราโคนาโซล (itraconazole) เป็นต้น การนำยาต้านเชื้อราเฉพาะที่มาใช้ร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อช่วยลดจำนวนหรือฆ่าเชื้อราบริเวณรอยโรค[7-13] อย่างไรก็ตาม บางการศึกษาที่ผ่านมาได้แสดงถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อราที่เปลี่ยนไปของยาต้านเชื้อราเมื่อนำมาใช้ร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ[10,11] หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ[12,13] Quinn[11] เปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อแคนดิดาของยาต้านเชื้อรา 4 ชนิด คือ ไมโคนาโซล คีโทโคนาโซล แอมโฟเทริซิน บี และนิสเททิน เมื่อผสมร่วมกับกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ 3 ยี่ห้อ คือ ไอโวซีล (Ivoseal) วิสโคเจล (Viscogel) และฟิตต์ (Fitt) พบว่าไมโคนาโซลและคีโทโคนาโซลมีประสิทธิภาพดีเทียบเท่ากับนิสเททินเมื่อผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อทั้ง 3 ยี่ห้อ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ 3 วันถึง 2 สัปดาห์ แต่ไม่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแคนดิดาในกลุ่มที่ผสมยาแอมโฟเทริซิน บี ซึ่งแสดงว่าวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อไอโวซีล วิสโคเจล[10] และฟิตต์ มีอิทธิพลทำให้เกิดการเสื่อมฤทธิของแอมโฟเทริซิน บี Chow และคณะ[12] รายงานว่าการผสมอิทราโคนาโซลร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อวิสโคเจลและโคซอฟ (Coe Soft) สามารถต้านเชื้อราได้ดีกว่าฟลูโคนาโซลและนิสเททินตามลำดับ โดยยามีประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าเชื้อรานาน 3 วัน แต่พบว่าอิทราโคนาโซลทำให้สมบัติทางกายภาพของวิสโคเจลเสียไป จึงไม่แนะนำให้ใช้ในคลินิก นอกจากนั้นปริมาณของยาที่ใช้ยังมีผลต่อความสามารถในการฆ่าเชื้อรา โดยปริมาณหรือความเข้มข้นของยามีผลในทางบวกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ คือได้เร็วขึ้นและนานขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น[9,13]

การศึกษาถึงประสิทธิภาพของยาต้านเชื้อราในระดับห้องปฏิบัติการที่ผ่านมามักเป็นยาที่อยู่ในรูปของยาบริสุทธิ์ (pure drug)[9,13,14] ซึ่งหาซื้อได้ยากหรือมักใช้ในปริมาณที่น้อยจึงไม่สะดวกที่จะมีเก็บไว้ในคลินิก ดังนั้นการนำผลของการศึกษานั้นมาประยุกต์ใช้ทางคลินิกจึงเป็นเรื่องยาก การวิจัยนี้สนใจศึกษานิสเททินที่อยู่ในรูปยาเหน็บช่องคลอดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคปากอักเสบเหตุฟันเทียม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ของยาต้านเชื้อรานิสเททินชนิดเม็ดเหน็บช่องคลอดเมื่อใช้ผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงระยะเวลาศึกษา 7 วัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุที่ใช้ในการวิจัยนี้ ได้แก่ วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อจีซีซอฟไลเนอร์ (GC Softliner) (GC CORP., Itabashiko, Tokyo, Japan) และยาเม็ดเหน็บช่องคลอดนิสเททิน (Nystatin vaginal tablet) ยี่ห้อไกนีคอน (Gynecon) (Continential-Pharm Co.Ltd.,Thailand) ขนาด 100,000 ยูนิต/เม็ด โดย 1 เม็ด มีน้ำหนัก 1.4 กรัม ผสมวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อครั้งละ 4 กรัม ตามอัตราส่วนที่ผู้ผลิตแนะนำ คือ ส่วนผง 2.2 กรัมต่อส่วนของเหลว 1.8 กรัม ส่วนของเม็ดยาจะบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยโกร่งก่อน แล้วจึงนำไปแทนที่ส่วนของผงพอลิเมอร์ของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อให้ได้อัตราส่วนตามเดิมก่อนนำไปผสมกับส่วนของเหลวของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อตามวิธีปกติ เทส่วนผสมที่ได้ 4 กรัม ลงในแม่แบบที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ จะได้ชิ้นทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร หนา 2 มิลลิเมตร ครั้งละ 4 ชิ้น

การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration: MIC) **ของนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดที่ผสมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ**

ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ (agar diffusion method) เริ่มจากใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มในเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ATCC 10231 ที่ได้จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^7 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) นำไปป้ายให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อแซบอรอดเด็กโทรส อการ์ (Sabouraud dextrose

agar; Difco®, Detroit, U.S.A.) ทิ้งไว้ให้แห้ง นำชิ้นทดสอบที่เตรียมไว้ซึ่งมีส่วนผสมของนิสเททินอยู่ 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 และ 0.1 กรัม ไปวางบนจานอาหารที่มีเชื้อเตรียมไว้ให้ห่างกันพอสมควร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำออกมาอ่านผล โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นทดสอบที่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) หรือวงใส (clear zone) โดยรอบชิ้นทดสอบที่ไม่น้อยกว่า 1 มิลลิเมตร ดังนั้นถ้าวัดได้ 15 มิลลิเมตรจะถือว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีชิ้นทดสอบวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ไม่มีนิสเททินเป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของนิสเททินที่ผสมอยู่ที่ยังมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

การศึกษาระยะเวลาการคงฤทธิ์ของนิสเททินภายหลังการผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อคือ 0.2 กรัม นำค่าที่มากกว่า 3 และ 4 เท่าคือ 0.6 และ 0.8 กรัมตามลำดับ มาใช้ศึกษาต่อเพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป โดยผสมที่ความเข้มข้นของนิสเททิน 0.6 กรัม และ 0.8 กรัม กับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อจีซีซอฟไลเนอร์ ใส่ชิ้นทดสอบในจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชนิด 24 หลุม (Nunc, Kamstrup, Denmark) หยดเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^5 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร จำนวน 50 ไมโครลิตร (μl) ลงบนชิ้นทดสอบ ทิ้งไว้นาน 2 ชั่วโมง แล้วหยดน้ำเกลือปลอดเชื้อ 2 มิลลิลิตร ลงไปในหลุมเพื่อล้างเอาเชื้อออกมาวัดหาปริมาณเชื้อที่มีเหลืออยู่ด้วยวิธีพอร์เพลท (pour plate) ด้วยแซบอรอด เดกโทรส อการ์ จากนั้นนำไปใส่ในตู้อบที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำออกมานับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้น ทำการทดลองแบบเดียวกันบนชิ้นทดสอบชิ้นเดิมในวันที่ 0, 3 และ 7 เก็บชิ้นทดสอบในกล่องปิดปราศจากเชื้อในตู้เย็น เตรียมชิ้นทดสอบในแต่ละความเข้มข้น 20 ชิ้น ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ไม่มีนิสเททินเป็นกลุ่มควบคุม

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณา หาค่าเฉลี่ยและคำนวณร้อยละของเชื้อที่ลดลง (percentage reduction of CFU) และร้อยละของชิ้นทดสอบที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์หรือที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ (percentage of negative culture) ของแต่ละช่วงเวลา

ผล

ตารางที่ 1 แสดงผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ พบว่าการผสมวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อกับความเข้มข้นของนิสเททินเริ่มต้นที่ 0.8 กรัม สามารถยับยั้งเชื้อได้มากที่สุดคือมีบริเวณยับยั้งกว้างที่สุด และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะลดลงตามลำดับตามความเข้มข้นของยาที่ลดลง โดยพบว่าความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่ยังสามารถยับยั้งเชื้อได้ เท่ากับ 0.2 กรัม คิดเป็น 3,570 ยูนิตต่อกรัมของส่วนผสม ส่วนกลุ่มควบคุมที่ไม่ผสมยาพบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เลย เนื่องจากเชื้อเจริญได้จนชิดขอบของชิ้นทดสอบ

ตารางที่ 2 แสดงระยะเวลาการออกฤทธิ์ของนิสเททินที่ผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ พบว่าในวันแรก กลุ่มที่ผสมนิสเททิน 0.6 กรัม สามารถลดเชื้อลงจาก 1,722.35±610.65 โคโลนี

ตารางที่ 1 *บริเวณยับยั้งและความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อของนิสเททินเมื่อผสมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ*

Table 1 *Inhibition zone and minimum inhibitory concentration (MIC) of nystatin combined GC Softliner*

Nystatin concentration (g)	Inhibition zone* (mm)	MIC (unit/g)
Non-nystatin (control)	-	
0.8	20.5	
0.6	19.0	3,570
0.4	18.5	
0.2	16.0	
0.1	14.25	

* Inhibition zone ≥15.0 mm. is considered to have antifungal action

เหลือ 1.0±3.44โคโลนี ส่วนกลุ่มที่ผสมนิสเททิน 0.8 กรัม สามารถลดเชื้อเหลือ 0.05±0.22 โคโลนี ในวันที่สามพบว่าที่ความเข้มข้น 0.6 และ 0.8 กรัม สามารถลดปริมาณเชื้อจาก 2,168±725.26 โคโลนี เหลือ 6.19±10.63 โคโลนี และ 1.25±2.66 โคโลนี ตามลำดับ และเมื่อครบ 7 วัน สามารถลดเชื้อจาก 2,136.92±1,459.65 โคโลนี เหลือ 7.28±20.19 โคโลนี และ 9.75±20.57 โคโลนีตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ายานิสเททินที่ทั้ง 2 ความเข้มข้นสามารถลดเชื้อลงได้อย่างมากจนเหลือปริมาณที่ใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลา 7 วัน โดยในตารางที่ 3 ได้คำนวณเป็นร้อยละของเชื้อที่ลดลง พบว่าการผสมที่ความเข้มข้นทั้ง 0.6 และ 0.8 กรัม สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่าร้อยละ 99 ตลอดระยะเวลา 7 วัน ส่วนร้อยละของชิ้นทดสอบที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเลย พบว่าในวันแรกกลุ่มที่ผสมนิสเททิน 0.6 และ 0.8 กรัม มีชิ้นทดสอบที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์คิดเป็นร้อยละ 91.5 และ 95 ตามลำดับ ส่วนในวันที่ 3 มีจำนวนลดลงเป็นร้อยละ 61.1 และ 75 ตามลำดับ และในวันที่ 7 สามารถฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ร้อยละ 47.2 และ 61.1 ตามลำดับ

บทวิจารณ์

การศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อประเมินความเป็นไปได้ของการนำนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดมาใช้ผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในการรักษาผู้ป่วยที่มีการอักเสบใต้ฐานฟันเทียมจากการติดเชื้อราแคนดิดา เนื่องจากยานี้หาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด ราคาไม่แพงและมีผลิตในประเทศไทย นิสเททินเป็นยาต้านเชื้อราที่มีการเตรียมยาในหลายรูปแบบ[5,6] ในรูปของผงยาบริสุทธิ์ (powder) ยาเม็ด (oral tablet) ยาน้ำแขวนตะกอน (oral suspension) สำหรับใช้หยดลงบนฐานฟันเทียมหรือบนวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อก่อนใส่ในช่องปาก หรืออมกลั้วในช่องปากนานประมาณ 1 ถึง 2 นาที ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อที่มีการติดเชื้อได้สัมผัสกับยาในระยะเวลาอันสั้นและความเข้มข้นของยาจะลดลงทันทีหลังการกลืนยาหรือบ้วนทิ้ง ชนิดเป็นยาอม (lozenge or pastille) ใช้ดูดเป็นระยะตลอดทั้งวันค่อนข้างเลอะเทอะและไม่มีขายในประเทศไทย รวมทั้งในรูปของยาเม็ดเหน็บช่องคลอด Douglas และ Walker[9] เปรียบเทียบวิธีการ

ตารางที่ 2 *ระยะเวลาการออกฤทธิ์ของนิสเททินที่ผสมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในช่วง 7 วัน*

Table 2 *Antifungal activity of nystatin combined GC Softliner during 7 days*

Group	N	Number of *C. albicans* (mean±sd)		
		Day 0	Day 3	Day 7
Non-nystatin	20	1,722.35±610.65	2,168.00±725.26	2,136.92±1,459.65
Nystatin 0.6 g	20	1.00±3.44	6.19±10.63	7.28±20.19
Nystatin 0.8 g	20	0.05±0.22	1.25±2.66	9.75±20.57

ตารางที่ 3 *ร้อยละของเชื้อแคนดิดาที่ลดลงและร้อยละของชิ้นทดสอบที่ไม่มีการเจริญของเชื้อในช่วง 7 วัน*

Table 3 *Percentage reduction in number of C. albicans and percentage of negative culture of nystatin combined GC Softliner during 7 days*

Group	Day 0		Day 3		Day 7	
	CFU reduction (%)	Negative culture (%)	CFU reduction (%)	Negative culture (%)	CFU reduction (%)	Negative culture (%)
Non-nystatin	0	0	0	0	0	0
Nystatin 0.6 g	99.9	91.7	99.7	61.1	99.6	47.2
Nystatin 0.8 g	100.0	95.0	99.9	75.0	99.4	61.1

รักษาผู้ป่วยด้วยการใช้ผงนิสเททินบริสุทธิ์ผสมร่วมกับวัสดุรองพื้นฐานฟันเทียมอย่างอ่อนยี่ห้อเท็มโพ (Tempo) กับการรักษาด้วยยาเม็ดใช้อม พบว่าทำให้จำนวนเชื้อราลดลงได้ไม่แตกต่างกัน และการใช้ความเข้มข้นของยาที่สูงขึ้นสามารถฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ได้นานขึ้น คือตลอดระยะเวลาศึกษา 3 สัปดาห์ วิธีการรักษาด้วยการรองพื้นฐานฟันเทียมด้วยวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมยาต้านเชื้อรานี้ ช่วยลดปัญหาเรื่องรสเฝื่อนของยาและผลข้างเคียงของยา เช่น อาการคลื่นเหียน นอกจากนั้น ยังช่วยเพิ่มโอกาสให้มีการหายของแผล เนื่องจากผลการรักษาไม่จำเป็นต้องพึ่งพาความร่วมมือจากผู้ป่วยในการใช้ยาบ่อยครั้งตามเวลาที่กำหนด เพื่อทำให้ฤทธิ์ยาคงอยู่อย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เกิดจากการที่ยาจะค่อย ๆ ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่ออย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่ผู้ป่วยใส่ฟันเทียม จึงเป็นทางเลือกในการรักษาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องใส่ฟันเทียมหรือเฝือกผ่าตัด (surgical stent) ที่มีการเสริมวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นเวลาค่อนข้างนาน โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ใส่เครื่องมือปิดเพดาน เนื่องจากจะไม่มีปัญหาเรื่องการไหลของยาเข้าไปในช่องโหว่บนเพดานเหมือนวิธีการใช้ร่วมกับยาน้ำแขวนตะกอนหรือเจล รวมทั้งผู้ป่วยที่มีอาการความจำเสื่อมหรือการควบคุมการรับรู้และการประสานงานของกล้ามเนื้อลดลง

การผสมนิสเททินร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อนี้เป็นระบบการนำพายา (release system) ที่วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการปลดปล่อยยา ซึ่งปัญหาที่สำคัญคือไม่สามารถประมาณปริมาณยาที่ควรใส่เพื่อให้ผลในการฆ่าหรือยับยั้งเชื้อราอย่างมีประสิทธิภาพตลอดระยะเวลาการใช้งาน เนื่องจากขณะนี้ยังไม่สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาออกจากวัสดุได้ ซึ่งหากมีการปลดปล่อยยาในระดับต่ำกว่าระดับของความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการรักษาเป็นระยะเวลานานก็อาจทำให้เชื้อดื้อยาได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเริ่มต้นจากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงเลือกศึกษาที่ค่าความเข้มข้นที่สูงกว่านั้น 3 และ 4 เท่า เพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้จริงในคลินิก เนื่องจากสภาพแวดล้อมในช่องปากที่มีทั้งน้ำลายและอาหาร ซึ่งอาจทำให้ความเข้มข้นของยาลดลง และประเมินระยะเวลาการคงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ ผลการทดลองนี้พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจะสูงสุดในช่วง 1 วันแรก ซึ่งเป็นผลมาจากมีการปลดปล่อยของยาพร้อมกับการชะละลายของแอลกอฮอล์ออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่ออย่างรวดเร็วในช่วงแรกนี้[14] และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะลดลงตามเวลาที่ผ่านไป สอดคล้องกับที่เคยมีการรายงานไว้[9,11-13] นอกจากนั้น พบว่าทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นมีความสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพตลอดระยะเวลาศึกษา 7 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ทันตแพทย์จะนัดผู้ป่วยมาเปลี่ยนวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันเทียม แม้ว่าระดับความเข้มข้น 0.8 กรัม จะมีร้อยละของชิ้นทดสอบที่มีการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์เป็นร้อยละ 95 ในวันแรก ร้อยละ 75 ในวันที่ 3 และร้อยละ 61.1 ในวันที่ 7 ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 0.6 กรัม มีความสามารถในการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ ร้อยละ 91.7 ในวันแรก ร้อยละ 61.1 ในวันที่ 3 และร้อยละ 47.2 ในวันที่ 7 จะเห็นได้ว่าระดับความเข้มข้น 0.6 กรัม มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ลดลงเร็วกว่าที่ 0.8 กรัม จึงทำให้อาจสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้น 0.8 กรัม มีประสิทธิภาพดีกว่าความเข้มข้น 0.6 กรัม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการผสมยาร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้น 0.8 กรัม นี้ให้เป็นเนื้อเดียวกันทำได้ค่อนข้างลำบาก และชิ้นทดสอบจะบวมขึ้นจนสามารถสังเกตุเห็นได้เมื่อทิ้งไว้นานเกิน 3 วัน ในขณะที่กลุ่ม 0.6 กรัมไม่พบปัญหาเรื่องการผสมเพียง แต่จะสังเกตเห็นมีการบวมขึ้นเล็กน้อยหลัง 3 วัน และมีความนุ่มมากกว่าวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ไม่ได้ผสมยา ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาที่ใช้ผงยาบริสุทธิ์ที่พบว่ามีผลทำให้วัสดุแข็งขึ้นหรือมีความนุ่มลดลง[13] ความนุ่มของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้นจากการผสมยาชนิดเม็ดเหน็บช่องคลอดนี้น่าจะเป็นผลดีต่อระยะเวลาในการใช้งานของวัสดุ ดังนั้นการนำไปใช้จริงจึงควรเลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้นของนิสเททิน 0.6 กรัม อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้มีข้อจำกัดเพราะได้ทำการประเมินวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเพียง 1 ยี่ห้อ จึงควรมีการศึกษาถึงความสามารถในการต้านเชื้อราของนิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดเมื่อผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้ออื่น ๆ ต่อไป ซึ่งอาจให้ผลที่ดีกว่า รวมทั้งควรศึกษาถึงอัตราส่วนของยาต่อผงพอลิเมอร์ต่อของเหลวที่สามารถผสมได้โดยไม่มีผลเสียต่อสมบัติทางกายภาพของวัสดุเพื่อประสิทธิผลสูงสุดในการฆ่าเชื้อ

บทสรุป

การใช้นิสเททินชนิดยาเม็ดเหน็บช่องคลอดที่ความเข้มข้น 3 ถึง 4 เท่า ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อผสมร่วมกับวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อยี่ห้อจีซีซอฟไลเนอร์ สามารถลดปริมาณเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้อย่างมากแม้ว่าจะไม่สมบูรณ์ ตลอดระยะเวลาศึกษา 7 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวธนิยา หมวดเชียงคะ และ นายอภิรัช สุภาษร นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยจัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์การวิจัยเป็นอย่างดี และทุนอุดหนุนการวิจัยทั่วไป (เงินงบประมาณแผ่นดิน 2545-2549) ในโครงการ "ศึกษาส่วนประกอบและคุณสมบัติของ Tissue conditioner เพื่อการส่งเสริมการผลิตขึ้นใช้เองในประเทศ" คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้สนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. ***Aust Dent J*** 1998;43:45-50.
2. Harrison A. Temporary soft lining materials. A review of their uses. ***Br Dent J*** 1981;151:419-22.
3. David J Farrell. Tissue conditioning and tissue conditioners. ***Dent Clin NAM*** 1975;19:255-68.
4. Jepson NJ, McCabe JF, Storer R. Age changes in the viscoelasticity of a temporary soft lining material. ***J Dent*** 1993;21:244-7.
5. McCullough MJ, Savage NW. Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. ***Aust Dent J*** 2005;50:S36-9.
6. Budtz-Jorgensen E, Lombardi T. Antifungal therapy in the oral cavity. ***Periodontol 2000*** 1996;10:89-106.
7. Webb BC, Thomas CJ, Wilcox MD, Harty DW, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. ***Aust Dent J*** 1998;43:244-9.
8. Carter GM, Kerr MA, Shepherd MG. The rational management of oral candidosis associated with dentures. ***N Z Dent J*** 1986;82:81-4.
9. Douglas WH, Walker DM. Nystatin in denture liners-an alternative treatment of denture stomatitis. ***Br Dent J*** 1973;135:55-9.
10. Thomas CJ, Nutt GM . The *in vivo* fungicidal properties of Visco-gel, alone, and combined with nystatin and Amphotericin B. ***J Oral Rehabil*** 1978;5:167-72.
11. Quinn MN. The effectiveness, *in vitro*, of miconazole and ketoconazole combined with tissue conditioners in inhibiting the growth of Candida albicans. ***J Oral Rehabil*** 1985;12:177-82.
12. Chow CK, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. ***Gerodontology*** 1999;16: 110-8.
13. Schnied TR. An *in vitro* analysis of a sustained release system for the treatment of denture stomatitis. ***Spec Care Dentist*** 1992;12:245-50.
14. Jittapiromsak N, Benjavongkulchai E and Purnaveja S. Nystatin release from tissue conditioner and its condidicidal effects. ***J Dent Assoc Thai*** 2006;56:30-4.

Original Article

Potential Antifungal Ability of Nystatin Vaginal Tablet Incorporating Tissue Conditioner

Rapeephan Nagasiri
Associate Professor
Department of Prosthodontics
Faculty of Dentistry, Mahidol University
Cholticha Amornchat
Associate Professor
Department of Microbiology
Faculty of Dentistry, Mahidol University
Woranut Weerapradist
Associate Professor
Department of Oral Pathology
Faculty of Dentistry, Mahidol University
Sangchai Olanrittinunt
Athip Wongfufuengkajorn
Sutteera Tanawatchanakarn
4th year dental student
Faculty of Dentistry, Mahidol University

Correspondence to:
Associate Professor Rapeephan Nagasiri
Department of Prosthodontics
Faculty of Dentistry, Mahidol University
Yothi Street, Ratchatavee, Bangkok 10400
E-mail: dtrng@mahidol.ac.th

Abstract

The aim of this study was to investigate the antifungal activity against *Candida albicans* in oral cavity of a commercially available nystatin vaginal tablet combined with a tissue conditioner during a 7-day period. The specimen disks (13x2 mm) of combined GC Softliner and nystatin vaginal tablet were prepared using the concentrations of 3 times (0.6 grams) and 4 times (0.8 grams) of the minimum inhibitory concentration (MIC) value. Non-nystatin group was used as control. Specimens were inoculated with *C. albicans* (10^5 CFU/ml, 50μl) for 2 hours, then flushed and cultured for evaluation of the remaining viable *C. albicans.* The antifungal activity was evaluated in interval at day 0, 3 and 7. The data were calculated in term of the percentage reduction of the colony forming unit (CFU) and the percentage of negative culture comparing to the control group. The MIC of nystatin combined GC Softliner was 3,570 units/gram. For 0.6 gram-nystatin group after specimen preparation at day 0, 3 and 7, the degree of reduction of CFU versus control were 99.9%, 99.7% and 99.6%, respectively; and the rate of negative culture were 91.7%, 66.1% and 47.2%, respectively. For 0.8 gram-nystatin group after specimen preparation at day 0, 3 and 7, the degree of reduction of CFU versus control were 100%, 99.9% and 99.4%, and the rate of negative culture were increased to 95%, 75% and 66.1%, respectively. However, the addition of 0.8 gram of nystatin may alter the physical property of tissue conditioner. It can be concluded that the combination of nystatin vaginal tablet and GC Softliner could effectively reduce high amount of *C. albicans* during a 7-day period. These results suggest the possibility for the use of nystatin vaginal tablet incorporating tissue conditioner for the treatment of candida-associated denture stomatitis.

Key words: antifungal activity; *Candida albicans*; nystatin vaginal tablet; tissue conditioner