การปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและผลต่อแคนดิดา อัลบิแคนส์

นางสาว นวภรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-3594-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

NYSTATIN RELEASE FROM TISSUE CONDITIONER AND ITS EFFECT ON *CANDIDA ALBICANS*

Miss Nawaporn Jittapiromsak

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Prosthodontics

Department of Prosthodontics

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974 –17-3594-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและผลต่อแคนดิดา อัลบิแคนส์
โดย	นางสาว นวภรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์
สาขาวิชา	ทันตกรรมประดิษฐ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุภบูรณ์ บุรณเวช
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…..……คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…….ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ภาณุพงศ์ วงศ์ไทย)

……..อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุภบูรณ์ บุรณเวช)

……...…อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย)

…….กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. มโน คูรัตน์)

…….กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ปรารมภ์ ซาลิมี)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นางสาวนวภรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์ : การปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและผลต่อแคนดิดา อัลบิแคนส์. (NYSTATIN RELEASE FROM TISSUE CONDITIONER AND ITS EFFECT ON *CANDIDA ALBICANS*) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ทพ. ศุภบูรณ์ บุรณเวช, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย, 59 หน้า. ISBN 974-17-3594-4

การติดเชื้อแคนดิดาบนเนื้อเยื่อที่รองรับฟันปลอม เป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมอะคริลิก การแนะนำให้ใช้นิสเตตินผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1973 อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาการปลดปล่อยของนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจหาการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินโดยใช้ปริมาณยาและเวลาเป็นตัวแปร นิสเตตินที่ใช้มีสองปริมาณ คือ 11 มิลลิกรัม (47,000 ยูนิต) และ 23 มิลลิกรัม (100,000 ยูนิต) ผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อจีซี ซอฟไลเนอร์ ชิ้นงานทดลอง 5 ชิ้นถูกสร้างขึ้นให้มีรูปร่างแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร หนา 1.5 มิลลิเมตร และแช่ในน้ำลายเทียม (pH 7.0) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 115 รอบ/นาที เก็บตัวอย่างที่ 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 1 วัน 2 วัน 4 วัน 6 วัน และ 8 วัน และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตร เพื่อหาค่าความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมา ทำการศึกษาผลของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุและนิสเตตินมาตรฐานต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (ATCC 10231) ด้วยการเพาะกับเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ความเข้มข้น 1.625×10^7 CFU/มิลลิลิตร ในโปตัสเซียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และหาร้อยละของเชื้อที่ตายบนวุ้นอาหารแซบบูโร่ ผลการทดลองแสดงว่า มีนิสเตตินเริ่มแรกปลดปล่อยออกมาอย่างสูงใน 1 วัน และมีการปลดปล่อยอย่างช้าๆจนถึงระยะสมดุลใน 6-8 วัน และพบว่าการผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัมในวัสดุมีการปลดปล่อยนิสเตติน ออกมามากกว่าการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมในวัสดุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการทดสอบแบบทีทุกช่วงเวลา ($p<0.050$) แต่ร้อยละการปลดปล่อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ผสมในวัสดุไม่ต่างกัน นิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ฆ่าเชื้อได้ร้อยละ 90.70 ใน 6 ชั่วโมง ในขณะที่นิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม ฆ่าเชื้อได้ร้อยละ 99.24 ใน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนิสเตตินที่ใช้ผสมทั้งสองปริมาณต่างให้การฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่วัดได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับช่วงความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อรา (ร้อยละ 97.55-100) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า ปริมาณนิสเตตินที่ใช้ผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีผลต่อปริมาณการปลดปล่อยแต่ไม่มีผลต่อร้อยละการปลดปล่อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ใช้ผสม และประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์มีความใกล้เคียงกับนิสเตตินมาตรฐาน

ภาควิชา ทันตกรรมประดิษฐ์	ลายมือชื่อนิสิต……..
สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา……..
ปีการศึกษา 2546	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม…….

4376106932 : MAJOR PROSTHODONTICS

KEY WORD: NYSTATIN / RELEASE / *CANDIDA ALBICANS* / TISSUE CONDITIONER

NAWAPORN JITTAPIROMSAK : NYSTATIN RELEASE FROM TISSUE CONDITIONER AND ITS EFFECT ON *CANDIDA ALBICANS*. THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR SUPABOON PURNAVEJA, THESIS COADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR DOCTOR EM-ON BENJAVONGKULCHAI, 59 pp. ISBN 974-17-3594-4

Candidosis on the denture supporting tissue is a common problem found in the patients wearing acrylic denture. The incorporation of nystatin into the tissue conditioner was introduced in 1973. However the release of nystatin from nystatin incorporated tissue conditioner has never been studied. The aim of this study was to investigate the release of nystatin from nystatin incorporated tissue conditioner by varying dosage and time. Two dosages of nystatin, 11 mg (47,000 units) and 23 mg (100,000 units), were mixed into tissue conditioner, GC-softliner®. Five specimens in each dosage were made in the form of circular disk, 2.5 cm diameter and 1.5 mm thickness. Specimens were immersed into artificial saliva (pH 7.0) at 37 °C with 115 rpm shaking rate. Samples were withdrawn at 1 h, 6 h, 1 d, 2 d, 4 d, 6 d, and 8 d and determined for the concentration of the released nystatin by measuring the absorbance at 305 nm. The effects of the released nystatin and standard nystatin on *Candida albicans* (ATCC 10231) were also studied by incubating samples with *Candida albicans* suspension (1.625×10^7 CFU/ml) in 1 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) at 37 °C for 2 h and then determining the percentage of cell killing on Sabouraud dextrose agar. The results showed that there was initial high release of nystatin from tissue conditioner in 1 d followed by slow release and then reached the equilibrium in 6-8 d. T-test statistics showed that there was a significant higher concentration of released nystatin from the specimens with 23 mg nystatin than those with 11 mg in all time intervals ($p<0.050$). However the percentages of amount of released nystatin comparative to the incorporated dosage were not different. The release nystatin from tissue conditioner with 11 mg nystatin caused 90.70% killing at 6 h whereas that from the tissue conditioner with 23 mg nystatin caused 99.24% killing at 1 h, after that, the complete killing was obtained. The mean concentrations of released nystatin were close to the range of minimum fungicidal concentration (97.55-100%) of the standard nystatin. These results indicated that the dosage of incorporated nystatin in the tissue conditioner had an effect on its release but not on the percentage of release comparative to its incorporated dosage. The fungicidal efficiency of the released nystatin on *Candida albicans* was similar to that of the standard nystatin.

Department / Program	Prosthodontics	Student's signature……
Field of study	Prosthodontics	Advisor's signature……...
Academic year	2003	Co – advisor's signature……

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ศุภบูรณ์ บุรณเวช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ภาณุพงศ์ วงศ์ไทย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. มโน คูรัตน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ปรารมภ์ ซาลิมี กรรมการสอบ ได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีเนื้อหาที่สมบูรณ์ รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง สัตถาพร สิโรตมรัตน์ เอื้อเฟื้อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธ์มาตรฐาน และอาจารย์ ทันตแพทย์หญิง พัชรา พิพัฒนโกวิท ช่วยติดต่อขอเชื้อดังกล่าวให้ นอกจากนี้ อาจารย์ ทันตแพทย์ ดร. วัฒนา คนธิคามี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. พสุธา ธัญญะกิจไพศาล อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ปิยะมล อัลบูสทานี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง วิจิตรา วิพิศมากูล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ แมนสรวง อักษรนุกิจ คุณมารศรี อุชชิน คุณมาลี แซ่ก๊วย คุณสุภมาส แก้วกระแสสินธ์ ได้ให้ความรู้และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัย อาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ให้คำปรึกษาด้านสถิติ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเภสัชวิทยา ให้ข้อมูลเกี่ยวกับนิสเตติน ภาควิชาชีวเคมี ภาควิชาจุลชีววิทยาและศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เอื้อเฟื้อสารเคมี เครื่องมือและสถานที่สำหรับการวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ในภาคและศูนย์ฯได้ให้การอำนวยความสะดวกมาโดยตลอด เจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษาให้การอำนวยความสะดวกในการจัดทำเอกสารต่างๆ และเจ้าหน้าที่ห้องสมุดที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการสืบค้นข้อมูล

ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย……..ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……..จ

กิตติกรรมประกาศ……..……ฉ

สารบัญ……ช

สารบัญตาราง…..……..…..ฌ

สารบัญภาพ……ฎ

บทที่

1. บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา……..…...……1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย…….……..……..2

สมมติฐานของงานวิจัย…….……..……..2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……..……3

ขอบเขตของงานวิจัย……3

ข้อจำกัดของการศึกษา…….……3

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การอักเสบใต้ฐานฟันปลอมร่วมกับการติดเชื้อรา……4

การรักษาการอักเสบใต้ฐานฟันปลอม…….……6

นิสเตติน……..……7

วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ……...10

การใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นตัวกลางในการนำพายาเพื่อรักษาการติดเชื้อรา…….18

3. วิธีดำเนินการวิจัย

สารสำหรับการวิจัย……21

ระเบียบวิธีวิจัย……...21

ตอนที่ 1 การปลดปล่อยนิสเตติน…….……..……21

ตอนที่ 2 การทดสอบการฆ่าเชื้อรา……24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

4. ผลการวิจัย……...……27

5. การอภิปรายและสรุปผล……..…….31

รายการอ้างอิง…….....37

ภาคผนวก……...……42

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์…..…….....59

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

1. ชนิดและปริมาณของเชื้อราที่แยกได้จากช่องปาก……...5
2. รูปแบบ ปริมาณ และการบริหารยานิสเตติน……...….8
3. ความสามารถในการละลายของนิสเตติน วัดที่อุณภูมิ 28 องศาเซลเซียส……..10
4. ปริมาณโดยน้ำหนักของพลาสติไซเซอร์และเอทธานอลในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ วิเคราะห์ด้วยวิธีกาซโครมาโตกราฟี (gas chromatography)…….14
5. ความเข้มข้นสะสมเฉลี่ยและร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน……..28
6. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตเฉลี่ยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม และวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อกลุ่มควบคุมในช่วงระยะเวลา 8 วัน……...…30
7. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตและตาย เมื่อสัมผัสกับนิสเตตินที่ความเข้มข้นต่างๆ……30
8. ค่าการดูดกลืนแสงของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และกลุ่มควบคุม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน……..43
9. ค่าการดูดกลืนแสงของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม และกลุ่มควบคุม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน……..43
10. ความเข้มข้นสะสมของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน……..44
11. ความเข้มข้นสะสมของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน……..44
12. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม……45
13. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม……45
14. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากกลุ่มควบคุม……46
15. ผลการชั่งน้ำหนักของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่แช่ในน้ำลายเทียมในช่วงระยะเวลา 8 วัน.....47
16. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียมและค่าการดูดกลืนแสง…...48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

17. การทดสอบการแจกแจงของความเข้มข้นของนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัมที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วยการทดสอบแบบโคลโมโกรอฟ-สไมร์นอฟ……53
18. การทดสอบความแปรปรวนและทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัมที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วยการทดสอบแบบลีวีนและที ตามลำดับ……..…..54
19. ค่าเฉลี่ย และผลรวมลำดับที่ของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ……..57
20. การทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบค่ากลางของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วยการทดสอบแบบแมน-วิทนีย์……..……..57

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

รูป หน้า

1. สูตรโครงสร้างของนิสเตติน……...…9
2. ความเข้มข้นสะสมเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน……...….28
3. ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตเฉลี่ยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน……...…..29
4. กราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียมและค่าการดูดกลืนแสง……...……..….48

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การอักเสบของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอม (denture stomatitis) โดยเฉพาะในกรณีที่เป็นฐานฟันปลอมชนิดอะคริลิก (acrylic denture base) เป็นปัญหาที่พบได้บ่อย การรวมตัวเป็นกลุ่มโคโลนี (colonization) ของเชื้อรา แคนดิดา อัลบิแคนส์ *(Candida albicans)* มีความสัมพันธ์กับการอักเสบของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอม ซึ่งการอักเสบร่วมกับการติดเชื้อนั้นส่วนใหญ่แล้วถูกพบด้วยความบังเอิญโดยทันตแพทย์ โดยที่ผู้ป่วยไม่มีอาการแสดง หรืออาจมีการอักเสบและการบาดเจ็บของเนื้อเยื่ออันเนื่องมาจากสาเหตุอื่น เช่น การใส่ฟันปลอมที่หลวม หรืออาการเจ็บเมื่อเคี้ยว ร่วมกับการติดเชื้อราที่แอบแฝงมาด้วย ทันตแพทย์จึงควรให้การรักษาตามสาเหตุของอาการนำ และให้คำแนะนำในการรักษาการติดเชื้อราด้วย เพราะเชื้อราอาจมีการแพร่กระจายเข้าสู่ระบบต่างๆของร่างกายได้ วิธีการรักษาการติดเชื้อรา ได้แก่ การถอดฟันปลอม การทายาต้านเชื้อรา (antifungals) เฉพาะที่บริเวณพื้นผิวเนื้อเยื่อในช่องปากและพื้นผิวด้านในของฟันปลอม การอมกลั้วน้ำยาฆ่าเชื้อรา และการใช้ยาต้านเชื้อราผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ดังนั้น จึงเกิดแนวคิดในการผสมยาในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ เพื่อให้วัสดุนำพายาต้านเชื้อราสู่บริเวณที่มีการติดเชื้อ เนื่องจากเชื่อว่าวัสดุจะปลดปล่อยตัวยาออกมา ทำให้เนื้อเยื่อได้สัมผัสกับยาตลอดระยะเวลาที่ผู้ป่วยใส่ฟันปลอมอยู่ ดังนั้น วิธีดังกล่าวจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่สะดวกสำหรับผู้ป่วย โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่สะดวกที่จะถอดฟันปลอม และอมกลั้วน้ำยาฆ่าเชื้อโรคบ่อยๆ หรือในผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับการผ่าตัดศัลยกรรม แม้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อนั้นจะมีข้อด้อย คือ โดยทั่วไปมีอายุการใช้งานไม่เกิน 1 สัปดาห์ เนื่องจาก เมื่อใช้งานจนถึงระยะเวลาดังกล่าวแล้ว วัสดุจะมีความแข็งมากขึ้น และเกิดรูพรุนเป็นที่ยึดเกาะ (adherence) ของเชื้อจุลชีพได้ แต่ด้วยอายุการใช้งานที่สั้นนั้น ทำให้ทันตแพทย์สามารถติดตามผู้ป่วยได้เป็นระยะ และทำการเปลี่ยนวัสดุให้ผู้ป่วยจนกว่าการติดเชื้อจะลดลง ยาที่เป็นทางเลือกสำหรับการรักษาการติดเชื้อราเฉพาะตำแหน่ง ได้แก่ ยาต้านเชื้อรากลุ่มโพลีอีน (polyene) กลุ่มอาโซล (azole) และยาฆ่าเชื้อ (disinfectants) เช่น คลอเฮ็กซิดีน (chlorhexidine) อย่างไรก็ตาม นิสเตติน (nystatin) ซึ่งเป็นยาต้านเชื้อรากลุ่มโพลีอีน ถูกแนะนำให้เป็นยาตัวเลือกอันดับแรกสำหรับรักษาการติดเชื้อราเฉพาะที่ ยังไม่มีรายงานว่านิสเตตินมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยหรือมีปฏิกิริยากับยาชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงนำนิสเตตินมาผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ และทดสอบประสิทธิ

ภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมา สำหรับในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยนิสเตตินออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในระยะเวลา 8 วัน

2. เพื่อศึกษาผลของปริมาณของนิสเตตินที่ใส่เข้าไปต่อปริมาณและร้อยละของการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในระยะเวลา 8 วัน

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาต่อการฆ่าเชื้อรา

สมมติฐานของงานวิจัย

1. มีการปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อตลอดระยะเวลา 8 วัน
2. ปริมาณของนิสเตตินที่ใช้ผสม มีผลต่อปริมาณและร้อยละการปลดปล่อยออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ โดยถ้าใช้นิสเตตินปริมาณสูง จะทำให้มีปริมาณและร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินออกมามากกว่าการใช้นิสเตตินปริมาณต่ำ
3. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาไม่แตกต่างจากนิสเตตินมาตรฐาน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบพฤติกรรมการปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ
2. ทราบปริมาณของนิสเตตินที่ควรใส่ในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ทำให้มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราตลอดระยะเวลาที่ต้องการใช้งาน (ภายใน 8 วัน)
3. เป็นพื้นฐานความรู้เบื้องต้นในการศึกษาต่อไป

ขอบเขตของงานวิจัย

1. เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ
2. ใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในการศึกษา 1 ชนิดคือ จี ซี ซอฟไลเนอร์ (GC-Softliner)
3. ใช้นิสเตติน 2 ปริมาณ ได้แก่ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม
4. ใช้น้ำลายเทียม (artificial saliva) pH 7.0 ในการแช่ชิ้นงานวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ
5. ใช้เชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 10231 รูปแบบบลาสโตโคนิเดีย (blastoconidia) ให้เป็นตัวแทนของเชื้อราในช่องปาก

ข้อจำกัดของการศึกษา

ไม่สามารถควบคุมสิ่งแวดล้อมต่างๆ ให้เหมือนกับในช่องปากมนุษย์อย่างแท้จริง เช่น ค่า pH และ อุณหภูมิ ซึ่งในความเป็นจริงนั้นมีความไม่แน่นอนในแต่ละช่วงเวลาของวัน นอกจากนี้พบว่าในช่องปากมนุษย์มีคราบจุลินทรีย์ (plaque) มีน้ำลายซึ่งมีแร่ธาตุและโปรตีนหลายชนิด มีการไหลของน้ำลาย และการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อช่องปาก มีเชื้อหลายชนิดและหลายรูปแบบ เช่น เชื้อรามีรูปแบบเป็นบลาสโตโคนิเดีย ไฮฟี (hyphae) และซูโดไฮฟี (pseudohyphae) เป็นต้น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การอักเสบใต้ฐานฟันปลอมร่วมกับการติดเชื้อรา

การอักเสบของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอมเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การบาดเจ็บจากการกดทับของฐานฟันปลอม หรือขอบเขตของฐานฟันปลอมไม่เหมาะสม การใส่ฟันปลอมที่หลวม การสบฟันไม่สมดุล ร่างกายขาดภูมิต้านทาน การแพ้สารอะคริลิก (acrylic) และการติดเชื้อรา หรือเกิดจากหลายสาเหตุร่วมกัน (Arendorf และ Walker, 1980) สำหรับการติดเชื้อราในช่องปาก (oral candidosis) นั้นพบได้บ่อย มีสาเหตุมาจากการเติบโตมากผิดปกติของเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่มแคนดิดา (Muzuka และ Glick, 1995) แคนดิดา อัลบิแคนส์เป็นสปีชีส์ที่พบได้โดยปกติในช่องปาก (Cannon และคณะ, 1995) และพบได้มากกว่าสปีชีส์อื่นๆ (Odds, 1988) เชื้อราชนิดนี้พบได้หลายตำแหน่งในช่องปาก ได้แก่ ด้านบนของลิ้น กระพุ้งแก้ม และผิวฟัน (Arendorf และ Walker, 1980) นอกจากนี้ สามารถพบเชื้อดังกล่าวได้ที่ผิวหนัง ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ และระบบสืบพันธุ์ (Budtz – Jörgensen และ Lombardi, 1996)

การใส่ฟันปลอมทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมต่างๆในช่องปาก เช่น pH ของน้ำลายลดลง ปริมาณออกซิเจนลดลง และปริมาณน้ำลายที่ชะล้างเนื้อเยื่อน้อยลง เป็นต้น สภาวะเหล่านี้เอื้ออำนวยให้มีการเติบโตของเชื้อรามากผิดปกติ (Muzuka และ Glick, 1995) Parvinen (1984) พบว่า ผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมติดเชื้อราได้บ่อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่ใส่ฟันปลอม Närhi, Ainamo และ Meurman (1993) ศึกษาความชุกของผู้ป่วยที่มีปริมาณเชื้อราในน้ำลายสูง พบความชุกร้อยละ 41 ในผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมทั้งปาก ร้อยละ 32 ในผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมบางส่วน และร้อยละ 19 ในผู้ป่วยที่ไม่ใส่ฟันปลอม สำหรับในประเทศไทยนั้น ในผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมจะพบความชุกของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์มากที่สุด รองลงมาคือ แคนดิดา ทรอปิคาลิส (*Candida tropicalis*) (วรลักษณ์, ยาหยีศรีเฉลิม และ รัชชพิน, 2531)

ในกรณีที่การใส่ฟันปลอมก่อให้เกิดอาการบาดเจ็บกับเนื้อเยื่อที่รองรับ และเยื่อบุผิวเกิดบาดแผล สูญเสียระบบการป้องกันเชื้อเบื้องต้นไป จะเป็นการส่งเสริมการติดเชื้อ ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Budtz – Jörgensen และ Bertram (1970) ซึ่งพบว่า มีความสัมพันธ์ระหว่างการอักเสบที่

เกิดขึ้นเนื่องจากการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอมกับปริมาณเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์บนเนื้อเยื่อที่รองรับ

การรวมตัวเป็นโคโลนีของเชื้อราบนพื้นผิวใดๆนั้น ขั้นตอนแรกที่มีความสำคัญมากที่สุดคือ การยึดเกาะ (Douglas, 1985) Samaranayake, McCourtie และ MacFarlane (1980) พบว่าแคนดิดาเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการยึดเกาะที่พื้นผิวด้านในของฟันปลอม Nikawa และคณะ (1992) อธิบายว่า แคนดิดามีกลไกในการยึดเกาะกับเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) และพื้นผิวด้านในของฟันปลอม ด้วยการยึดกันระหว่างพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic surface) ของเซลล์แคนดิดาและเซลล์เยื่อบุผิวหรือพื้นผิวด้านในของฟันปลอม นอกจากนี้ เชื้อแคนดิดาสามารถเปลี่ยนส่วนประกอบของพื้นผิวเซลล์ตนเองได้ตามสภาวะแวดล้อมที่เชื้อได้สัมผัส เพื่อหลบหนีระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Diamond, 1993) และเพิ่มความสามารถในการเข้าจับกับตัวรับ (receptor) ของเยื่อบุผิวเซลล์ชนิดต่างๆในช่องปาก Samaranayake และคณะ (1980) พบว่าแคนดิดารูปแบบไฮฟีจะมีการยึดเกาะได้ดีกว่ารูปแบบบลาสโตโคนิเดีย เพราะพื้นผิวเซลล์รูปแบบไฮฟีมีส่วนประกอบของโปรตีนที่หลากหลายกว่าในการเข้าจับกับตัวรับนานาชนิดของเซลล์ในช่องปาก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของเชื้อราที่แยกได้จากช่องปาก [ปรับปรุงจาก Odds (1988)]

Yeast species	Percentage of yeast isolates
Candida albicans	47 – 75
Candida tropicalis	7
Candida glabrata	7
Candida krusei	< 5
Candida parapsilosis	< 5
Candida guilliermondii	< 5
Rhodotorula spp.	< 4
Saccharomyces cerevisiae	< 2
Cryptococcus spp.	< 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรักษาการอักเสบใต้ฐานฟันปลอม

เมื่อทันตแพทย์พบการอักเสบใต้ฐานฟันปลอม ต้องประเมินสาเหตุต่างๆ และรักษาไปตามสาเหตุ รวมไปถึงสาเหตุที่มาจากการติดเชื้อราด้วย การให้ยาต้านเชื้อราสำหรับผู้ป่วยต้องคำนึงถึงสุขภาพของผู้ป่วย อาการทางคลินิก และความรุนแรงของการติดเชื้อ

กรณีที่มีการติดเชื้อเฉพาะที่ใต้ฐานฟันปลอมที่มีความรุนแรง มีการแพร่กระจาย หรือมีภูมิคุ้มกันบกพร่องร่วมด้วย ควรมีการวิเคราะห์แยกโรคให้ชัดเจน ร่วมกับการปรึกษากับแพทย์เพื่อเลือกยาที่เหมาะสมสำหรับการออกฤทธิ์ทางระบบ ยาเหล่านี้ได้แก่ คีโตโคนาโซล (ketoconazole) ฟลูโคนาโซล (fluconazole) ไอตราโคนาโซล (itraconazole) และ 5 – ฟลูออโรไซโตซีน (5 – fluorocytosine) สำหรับในกรณีที่มีการติดเชื้อเฉพาะที่บริเวณเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอม ควรเลือกใช้ยาที่ใช้เฉพาะที่ ยาเฉพาะที่ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ นิสเตติน และ คลอไตรมาโซล (clotrimazole) สำหรับฟันปลอม ควรมีการถอดออก และลดจำนวนเชื้อที่ฟันปลอมด้วยการแช่ในสารละลายของยาต้านเชื้อรา หรือ คลอเฮ็กซิดีน กลูโคเนต (chlorhexidine gluconate) ร้อยละ 0.2 (Budtz - Jörgensen, 1990)

คลอไตรมาโซล เป็นยากลุ่มอาโซลที่เหมาะกับการใช้เฉพาะที่ มีกลไกสำคัญในการออกฤทธิ์ คือ การรบกวนการสังเคราะห์เออโกสเตอรอล (ergosterol) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการเลือกผ่าน (permeability) ของเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด สามารถให้ยาได้ในรูปแบบยาอมและครีมทาเฉพาะที่ มีการดูดซึมได้น้อยในทางเดินอาหาร มีการทำลายของยาที่ตับ ดังนั้นเมื่อใช้ยาแล้ว อาจมีอาการข้างเคียงของการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และตับเป็นพิษ นอกจากนั้น ยานี้มีปฏิกิริยากับยาอื่นได้ (drug interaction) ได้แก่ ยาไซโคลสปอรีน (cyclosporine) และยาซัลโฟนิลยูเรีย (sulfonylurea) (Sherman และคณะ, 2002)

คลอเฮ็กซิดีน ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาการอักเสบใต้ฐานฟันปลอมเนื่องจากการติดเชื้อราเช่นกัน (Olsen, 1975) Bobichon และ Bouchet (1987) อธิบายว่า เมื่อเชื้อแคนดิดาได้สัมผัสกับคลอเฮ็กซิดีน พบว่านิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) ของเชื้อมีการตกตะกอน (coagulation) ทำให้การแตกหน่อ (budding) ถูกยับยั้ง และเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผนังเซลล์ นอกจากนี้ ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ พบว่ามีส่วนประกอบในไซโตพลาสซึมรั่วไหลออกสู่ภายนอก ทำให้เชื้อตาย ในกรณีของเชื้อที่เพิ่งมีการแตกหน่อพบว่าเชื้อไม่ตาย และมีการเจริญกลับคืน จึงเชื่อว่า คลอเฮ็กซิดีนมีฤทธิ์ในการฆ่า และยับยั้งเชื้อรา (fungicidal and fungistatic) Ellepola และ

Samaranayake (2001) แนะนำให้ใช้ คลอเฮ็กซิดีน กลูโคเนต (chlorhexidine gluconate) เข้มข้นร้อยละ 0.12 เป็นน้ำยาบ้วนปาก ใช้วันละ 2 ครั้ง เวลาเช้าและเย็น นานครั้งละ 30 วินาที และบ้วนทิ้ง คลอเฮ็กซิดีนมีข้อด้อยได้แก่ รสชาติไม่ดี ทำให้ฟัน เยื่อบุช่องปาก และฟันปลอมอะคริลิกติดสีน้ำตาล (Epstein, 1990; Budtz–Jörgensen และ Loe, 1972)

นิสเตติน เป็นยากลุ่มโพลีอีน ที่ถูกเลือกเป็นยาตัวแรกสำหรับการรักษาอาการติดเชื้อราเฉพาะที่ ไม่มีผลข้างเคียงและปฏิกิริยาต่อยาอื่น ให้ผลการต้านเชื้อราที่ดีทั้งบนเนื้อเยื่อและฐานฟันปลอม Arjuna, Ellepola และ Samaranayake (1998) ศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อเชื้อราได้สัมผัสกับนิสเตตินที่มีความเข้มข้น 9.36 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าระดับที่ทำให้เชื้อตาย (sub-lethal concentration)ในระยะเวลาสั้นเพียง 1 ชั่วโมง พบว่าการยึดเกาะระหว่างเชื้อและฐานฟันปลอมอะคริลิก ลดลงร้อยละ 86.48 นอกจากนี้ พบการยับยั้งการสร้างเจิร์มทิวบ์ (germ tube) โดยการสังเกตจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope) พบว่าผนังชั้นในของเซลล์บลาสโตโคนิเดียมีการยุบตัว ในขณะที่ผนังชั้นนอกยังคงเป็นปกติ หรือเกิดลักษณะที่เรียกว่า “โกสต์ไลค์” (ghost-like) ดังนั้น นิสเตตินอาจมีผลต่อโครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา ซึ่งส่งผลกระทบต่อการแตกหน่อและการแบ่งตัว (multiplication) (Ellepola และ Samaranayake, 1998)

นิสเตติน

นิสเตตินเป็นยาต้านและฆ่าเชื้อรากลุ่มโพลีอีนซึ่งสร้างจากแบคทีเรียสเตร็ปโตไมซิส นอร์สิไอ (*Streptomyces noursei*) สเตร็ปโตค็อกคัส ออเรียส (*Streptococcus aureus*) และสเตร็ปโตไมซิส สปีชีส์อื่นๆ (Budavaris, Smith และ Heckelman, 1989)

เภสัชวิทยา

นิสเตติน มีกลไกการออกฤทธิ์ คือ การจับเออโกสเตอรอลในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการเลือกผ่าน ส่งผลให้มีการรั่วไหลของส่วนประกอบภายในออกสู่ภายนอกเซลล์ (Bennett, 2001) และอาจมีการเปลี่ยนแปลงที่โครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งส่งผลกระทบต่อการแตกหน่อ และการแบ่งตัว (Ellepola และ Samaranayake, 1998) นิสเตตินออกฤทธิ์ฆ่าและยับยั้งเชื้อแคนดิดาเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังมีผลต่อเชื้อ แอสเพอร์จิลัส (*Aspergillus*) ค็อกซิดิโออิดิส อิมไมติส (*Coccidioides immitis*) คริปโตค็อกคัส นีโอฟอร์แมนส์ (*Cryptococcus neoformans*) ฮิสโตพลาสมา แคปซูลาตัม

(*Histoplasma capsulatum*) และ บลาสโตไมซิส เดอร์มาติดิส (*Blastomyces dermatidis*) เป็นต้น (Sigma, 2002) นิสเตตินไม่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรีย (Hamilton-Miller, 1973) มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration) แคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็น 1.56 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร (Ellepola และ Samaranayake, 1998) ในบางการศึกษามีค่าอยู่ในช่วง 4-8 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร (Gunderson และคณะ, 2000) การดูดซึมที่ระบบทางเดินอาหารมีน้อยมาก และยาถูกขับถ่ายออกทางอุจจาระโดยไม่มีการเปลี่ยนรูป นิสเตตินมีการผลิตในหลายรูปแบบ และมีการบริหารยา (drug administration) สรุปได้ดังตารางที่ 2

ผลข้างเคียงพบได้น้อยมาก แม้ใช้ยาในระยะเวลานาน และมีรายงานการแพ้ต่อยาน้อยมาก อย่างไรก็ดี อาการแพ้ยามักมาจากสารกันเสีย (preservatives) ซึ่งผสมอยู่ในสูตรยา เช่น เอธีลีน ไดเอมีน (ethylene diamine) พาราเบน (paraben) และไธเมอรอซอล (thimerosol) โดยพบอาการอักเสบบริเวณที่ผิวสัมผัส (contact dermatitis) นิสเตตินไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มนุษย์เมื่อบริหารยาทางช่องปาก จากการรวบรวมข้อมูลของ Hamilton-Miller (1973) พบว่า ปริมาณยาเฉลี่ยที่ทำให้สัตว์ทดลอง (หนู) ตายร้อยละ 50 (lethal dose$_{50}$: LD$_{50}$) เมื่อบริหารยาทางช่องปาก มีค่ามากกว่า 3,500 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

ตารางที่ 2 รูปแบบ ปริมาณ และการบริหารยานิสเตติน

รูปแบบยา	ปริมาณ	การบริหารยา
ครีมทาเฉพาะที่	23 มิลลิกรัม / กรัม	ผิวหนัง
ขี้ผึ้ง	23 มิลลิกรัม / กรัม	ผิวหนัง
ผง	23 มิลลิกรัม / กรัม	ผิวหนัง
ยาเม็ดสำหรับช่องคลอด	23 มิลลิกรัม / เม็ด	ช่องคลอด
ยาน้ำแขวนตะกอน	23 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร	ช่องปาก
ยาเม็ดสำหรับช่องปาก	114 มิลลิกรัม / เม็ด	ช่องปาก

วิธีใช้ยาที่บริหารทางช่องปากและปริมาณยาที่ใช้รักษา

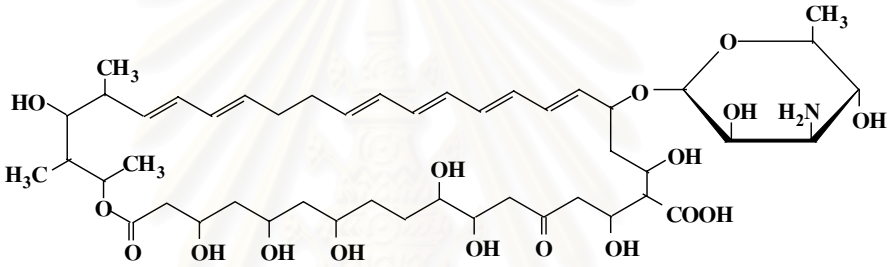
<u>ยาน้ำแขวนตะกอน</u> สำหรับผู้ใหญ่ ใช้ครั้งละ 23 มิลลิกรัม (100,000 ยูนิต) วันละ 4 ครั้ง โดย อมยาระยะหนึ่งแล้วกลืน ถ้ามีการติดเชื้อที่รุนแรงสามารถเพิ่มปริมาณยาเป็น 2 เท่าได้

<u>ยาเม็ดสำหรับช่องปาก</u> สำหรับผู้ใหญ่ใช้ครั้งละ 114 มิลลิกรัม (500,000 ยูนิต) วันละ 3 ครั้ง โดยอมยาจนกระทั่งละลายหมด ถ้ามีการติดเชื้อที่รุนแรงสามารถเพิ่มปริมาณยาเป็น 2 เท่าได้

ชื่อการค้าของนิสเตตินที่มีในประเทศไทย ได้แก่ ไมโคสเตติน (Mycostatin®) เป็นยาน้ำแขวนตะกอน และลิสติน (Lystin®) เป็นยาเม็ดสำหรับช่องคลอด ส่วนยาเม็ดสำหรับช่องปากไม่มีขายในประเทศไทย

โครงสร้างและลักษณะทางกายภาพ

นิสเตตินมีสูตรเคมี คือ $C_{47}H_{75}NO_{17}$ และมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1 และมีการดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด ณ ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตร (Wilson และ Stewart, 2001)



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของนิสเตติน

นิสเตติน เป็นสารดูดความชื้น (hygroscopic) ผงมีสีเหลือง กลิ่นซีเรียล (cereal) ควรเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2 – 8 องศาเซลเซียส ในภาชนะทึบแสงที่มีฝาปิดมิดชิด และใส่สารดูดความชื้น เนื่องจาก ยาเสื่อมได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับความร้อน ออกซิเจน แสงสว่าง [โดยเฉพาะแสงที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 380 – 410 นาโนเมตร (Hamilton-Miller, 1973)] และ pH ที่ต่ำกว่า 2 และ สูงกว่า 9 (Sigma, 2002) นิสเตตินเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย เมื่อวัดการละลายที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่า มีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างๆ ดังตารางที่ 3

ตามที่กล่าวมาข้างต้นแล้วว่าเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ ควรได้รับการรักษาไปตามสาเหตุ ได้แก่ การใช้ยาต้านเชื้อราเมื่อมีการติดเชื้อรา การแก้ไขการสบฟันของฟันปลอมที่ผิดปกติ เช่นการสบฟันขัดขวาง (interferance) การแก้ไขฟันปลอมบริเวณจุดกดเจ็บ (sore spot) การแก้ไขฟันปลอมที่หลวม และการแก้ไขฟันปลอมที่ขอบเขตไม่พอดี เป็นต้น สิ่งที่ทันตแพทย์พบบ่อย คือ เนื้อเยื่อเหล่านั้นมีสุขภาพไม่ดี เช่น มีรอยกดทับ มีบาดแผล มีเนื้อเยื่องอกเกิน หรือ การบวมอักเสบ

ดังนั้นการปรับสภาพเนื้อเยื่อที่รองรับให้มีสุขภาพดีเป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเช่นกัน ได้แก่ การถอดฟันปลอมเพื่อให้เนื้อเยื่อที่ถูกกดมีการคืนตัวกลับ และมีการหายของเนื้อเยื่อที่มีบาดแผลหรือมีการบวม หรือการผ่าตัดบริเวณที่มีเนื้อเยื่องอกเกิน ในบางกรณี จำเป็นต้องมีการนำวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมด้วย เพื่อช่วยในการกระจายแรง และขยายขอบเขตของฟันปลอม ในขณะเดียวกันทำหน้าที่เสริมฐานฟันปลอมชิ้นเดิมให้ผู้ป่วยในระหว่างรอการทำฟันปลอมชิ้นใหม่

ตารางที่ 3 ความสามารถในการละลายของนิสเตติน วัดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (Budavaris และคณะ, 1989)

ตัวทำละลาย	ความสามารถในการละลาย (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)
น้ำ	4.00
เมธานอล (methanol)	11.20
เอธานอล (ethanol)	1.20
คาร์บอน เตตราคลอไรด์ (carbon tetrachloride)	1.23
คลอโรฟอร์ม (chloroform)	0.48
เบนซีน (benzene)	0.28
เอธีลีน ไกลคอล (ethylene glycol)	8.75

วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ คือ วัสดุยืดหยุ่นแบบหนืด (viscoelastic material) ใช้สำหรับเสริมด้านสัมผัสเนื้อเยื่อของฐานฟันปลอมอะคริลิก เพื่อให้เกิดการกระจายแรงบดเคี้ยวอย่างทั่วถึง และดูดซับพลังงาน (absorb energy) หรือเป็นตัวกลางในการรับแรงกระแทก (cushion) ระหว่างฐานฟันปลอมและเนื้อเยื่อรองรับ (Braden, Wright และ Parker, 1995) ในบางครั้งเรียกว่า “วัสดุเสริมฐานฟันปลอมอย่างนุ่มชั่วคราว” (temporary soft lining material or temporary resilient lining material) เนื่องจาก มีความนุ่มในระยะเวลาอันสั้น โดยทั่วไปใช้งานได้ไม่เกิน 1 สัปดาห์ (Chase, 1961; Pound, 1962; Newsome และคณะ, 1988)

ข้อบ่งใช้

1. ปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บ หรือ มีการอักเสบใต้ฐานฟันปลอม ซึ่งมีหลายสาเหตุตามที่กล่าวมาข้างต้น

2. เป็นวัสดุพิมพ์ปากขณะทำงาน (functional impression material) ซึ่งหมายถึง วัสดุที่ใช้ใส่ลงบนพื้นผิวด้านสัมผัสเนื้อเยื่อของฐานฟันปลอมเพื่อเก็บบันทึกรายละเอียดของเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อขณะทำงาน วัสดุชนิดนี้จะมีการไหลอยู่นานแม้จะก่อตัวเป็นเจล (gel) แล้ว ซึ่งเป็นลักษณะของสมบัติยืดหยุ่นแบบหนืด ลักษณะดังกล่าวเป็นประโยชน์ในการลอกเลียนรายละเอียดของเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อได้อย่างดี Graham, Jones และ Sutow (1989) แนะนำให้พิมพ์ปากขณะทำงานเป็นระยะเวลานานอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จึงจะเพียงพอในการบันทึกรายละเอียด

3. เสริมฐานฟันปลอมชนิดใส่ทันทีหลังจากถอนฟัน (immediate denture) โดย Watt (1960) พบว่า มีการยุบตัวของกระดูกหลังการถอนฟันภายใน 3 สัปดาห์ถึง 3 เดือน ส่งผลให้ฟันปลอมหลวม จึงเหมาะที่จะใช้วัสดุชนิดนี้ เสริมฐานฟันปลอมชั่วคราว (temporary reline) ในช่วงที่มีอัตราการละลายของกระดูกเร็วไปก่อนที่จะเปลี่ยนฟันปลอมชิ้นใหม่ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการตัดแต่งหรือเติมวัสดุได้ตลอดเวลาเพื่อให้แนบสนิทกับเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ สามารถใช้วัสดุนี้ฉาบฟันปลอมเพื่อเป็นวัสดุปิดแผลผ่าตัด เช่น หลังการผ่าตัดเพิ่มความสูงของสันกระดูกขากรรไกร (ridge augmentation) การผ่าตัดเพิ่มความลึกของเนื้อเยื่อส่วนวกกลับ (vestibuloplasty) การปลูกถ่ายผิวหนัง (skin graft) ในช่องปาก ซึ่งต้องมีการใส่วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลานานประมาณ 1 สัปดาห์ (Hopkins, 1987) นอกจากนี้ ยังสามารถใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในการบูรณะร่วมกับการใส่ฟันปลอมที่เป็นเครื่องมือปิดเพดาน (obtulator) และเครื่องมือช่วยในการออกเสียง (speech aid)

4. เป็นวัสดุนำพายาสำหรับรักษาการติดเชื้อราของเนื้อเยื่อ (Douglas และ Walker, 1973)

ชื่อการค้าของผลิตภัณฑ์วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

ได้แก่ โค คอมฟอร์ต (Coe Comfort®) โค ซอฟ (Coe Soft ®) ฟิตต์ (Fitt®) ฟิต ซอฟเตอร์ (Fit Softer®) จี ซี ซอฟไลเนอร์ ไฮโดรคาส (Hydrocast®) ไฮ-ซอฟ (Hi – Soft®) เคอร์ ฟิตต์ (Kerr Fitt®) ไลนัล (Lynal®) ซอฟโทน (Softone®) เอส อาร์ ไอโวซีล (S R Ivoseal®) โชฟุ ทิชชู คอนดิชันเนอร์ (Shofu Tissue Conditioner®) เท็มโพ (Tempo®) วิสโคเจล (Viscogel®) เป็นต้น

ส่วนประกอบและกลไกการเกิดปฏิกิริยา

วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ประกอบด้วยส่วนผง คือ โพลีเอธิลเมธาคริเลท ซึ่งอาจผสมสารเติมแต่ง (filler) ด้วย และส่วนเหลว ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย ประกอบด้วย พลาสติไซเซอร์ (plasticizer) และ เอธานอล (Braden, 1970a,b; Jones และคณะ, 1988; Parker และ Braden, 1990)

เมื่อผสมส่วนผงและส่วนเหลวเข้าด้วยกัน จะเกิดกลไกการละลาย สารทำละลายเม็ดโพลีเมอร์ คือ เอธานอลและพลาสติไซเซอร์ โดยเอธานอลเป็นตัวทำละลายที่มีอัตราเร็วกว่าพลาสติไซเซอร์ เนื่องจากเอธานอลมีพันธะไฮโดรเจนกับโพลีเมอร์ที่แรงกว่า หลังจากเอธานอลเข้าทำละลายแล้ว ส่งผลให้เม็ดโพลีเมอร์บวมตัว ต่อจากนั้น พลาสติไซเซอร์จึงเข้าทำละลายในลำดับต่อมา ในที่สุดเกิดเป็นลักษณะของเหลวหนืดคล้ายเจล (Braden, 1970b) หรืออาจกล่าวได้ว่าเอธานอลเป็นสารที่ช่วยให้พลาสติไซเซอร์เข้าทำละลายเม็ดโพลีเมอร์ได้รวดเร็วยิ่งขึ้น โครงสร้างภายในเจลมีลักษณะคล้ายมีการเชื่อมขวาง (pseudo crosslink) เนื่องจากสายโซ่โพลีเมอร์ทำมุมซึ่งกันและกัน (chain entanglement) (Lodge, 1964) ทำให้ลดอุณหภูมิการเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature) และค่าโมดูลัสของความยืดหยุ่น (elastic modulus) ส่งผลให้วัสดุมีสมบัติยืดหยุ่นแบบหนืด

สมบัติของวัสดุ และการใช้งานทางคลินิก

เมื่อผสมส่วนผงและส่วนเหลวของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเข้ากันแล้ว ในช่วงแรกจะเกิดเป็นของเหลวที่มีการไหลได้ดี การไหลในช่วงนี้ เรียกว่า “การไหลแรกเริ่ม” (initial flow) ในช่วงนี้เหมาะสำหรับการใส่วัสดุเข้าสู่ช่องปาก และออกแรงกดให้วัสดุมีการไหลแผ่ลงบนเนื้อเยื่อ ภายในระยะเวลาหนึ่ง วัสดุจะก่อตัวกลายเป็นเจล ซึ่งระยะเวลาตั้งแต่เริ่มผสมจนกระทั่งก่อตัวเป็นเจลเรียกว่า “ระยะเวลาการเกิดเจล” (gelation time) ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการเกิดเจล ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์ อัตราส่วนของส่วนผงต่อส่วนเหลว ปริมาณเอธานอล และ ชนิดของพลาสติไซเซอร์ (Murata และคณะ, 1993) วัสดุที่มีระยะเวลาการเกิดเจลสั้น มีการใช้งานง่ายกว่าวัสดุที่มีระยะเวลาการเกิดเจลนาน เนื่องจากนำออกจากช่องปากได้เร็ว และตัดแต่งได้อย่างสะดวก ในขณะที่วัสดุที่มีระยะเวลาการเกิดเจลนาน จะต้องใส่วัสดุไว้ในช่องปากเป็นเวลานานกว่าจะถึงเวลาก่อตัว และนำออกจากช่องปากเพื่อรับการตัดแต่ง มิฉะนั้นจะเหนียวติดมือ นอกจากนั้น ข้อด้อยของการใส่วัสดุที่มีระยะเวลาการเกิดเจลนานในช่องปาก คือ อาจทำให้ระยะสบฟันแนวดิ่ง (occlusal vertical dimension) ลดลง ดังนั้นอาจปรับปรุงการทำงานของวัสดุที่มีระยะเวลาการเกิดเจลนานโดยการรอสักครู่ ก่อนที่จะนำวัสดุใส่ในช่องปาก (Murata และคณะ, 1998) เมื่อเข้าสู่

ระยะเจลแล้ว ทันตแพทย์ไม่ต้องออกแรงกด เป็นหน้าที่ของการเคลื่อนไหวตามปกติของช่องปากผู้ป่วย ระยะนี้วัสดุจะแสดงสมบัติยืดหยุ่นแบบหนืด

วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ เป็นวัสดุที่มีธรรมชาติของการยอมตาม (compliance) ต่อแรงที่มากระทำ คือ เมื่อมีแรงมากระทำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) ได้โดยง่าย หรือเรียกว่ามี “ความนุ่ม” (softness) และมีอัตราการคืนตัวกลับสู่รูปร่างเดิม (resilience) (Braden และ Clarke, 1972) โดยการคืนตัวกลับมักเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างถาวร (permanent deformation) (Murata และคณะ, 1996) ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าว เรียกว่า “การไหลหลังก่อตัว” (plastic flow) ของวัสดุ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการลอกเลียนรายละเอียดของเนื้อเยื่อได้อีกระยะเวลาหนึ่ง

Wright (1976) และ Graham และคณะ (1989) อธิบายว่า ความนุ่มของวัสดุเสริมฐานฟันปลอมอย่างนุ่ม มีความสัมพันธ์กับความหนา ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ความหนาที่มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อรับแรงกระแทกจากการบดเคี้ยว ซึ่งโดยทั่วไปมีค่า 0.5 – 4 มิลลิเมตร (Gent และ Lindley, 1959) Newsome และคณะ (1988) ศึกษาความนุ่มของวัสดุเมื่อแช่ในน้ำกลั่นนาน 4 สัปดาห์ โดยใช้ความรู้สึกของทันตแพทย์ 40 คน พบว่า วัสดุที่มีความหนา 2 มิลลิเมตร ให้ผลความรู้สึกพึงพอใจต่อความนุ่มมากกว่าความหนา 1 มิลลิเมตร นอกจากนี้ หากปรับสัดส่วนของส่วนผงต่อส่วนเหลวให้ลดลง จะให้ผลความรู้สึกพึงพอใจต่อความนุ่มมากขึ้น

อิทธิพลของส่วนประกอบต่อสมบัติของวัสดุ

1. โพลีเมอร์

โพลีเมอร์อยู่ในส่วนผงของวัสดุ โพลีเมอร์ที่ใช้โดยส่วนใหญ่เป็นโพลีเอธิลเมธาคริเลท บางผลิตภัณฑ์มีส่วนผสมของโพลีเมอร์กลุ่มที่ใกล้เคียงกันอยู่ด้วย เช่น โพลีเมธิลเมธาคริเลท สาเหตุที่นิยมใช้โพลีเอธิลเมธาคริเลทมากกว่าโพลีเมธิลเมธาคริเลท เนื่องจาก โพลีเอธิลเมธาคริเลทมีจำนวนอะตอมของธาตุคาร์บอนมากกว่า ดังนั้นจึงถูกละลายด้วยเอธานอลได้เร็วกว่า (Braden, 1970a) Murata และคณะ (1993) พบว่า การใช้สัดส่วนของ ส่วนผงต่อส่วนเหลวสูง หรือการใช้โพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะทำให้ระยะเวลาการเกิดเจลสั้นลง นอกจากนี้การปรับสัดส่วนของ ส่วนผงต่อส่วนเหลว ยังส่งผลต่อสมบัติยืดหยุ่นแบบหนืดของวัสดุด้วย เช่น การยอมตาม การไหลหลังก่อตัว และระยะเวลาที่ใช้ในการคืนตัว (relaxation time) (Murata และคณะ, 1998) เป็นต้น

2. เอธานอล

เอธานอล อยู่ในส่วนเหลวของวัสดุ จัดเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ มีปริมาณร้อยละ 8 – 50 ของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ซึ่งขึ้นกับบริษัทผู้ผลิต (Jones และคณะ, 1988) (ตารางที่ 4) เอธานอลทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายโพลีเมอร์ ถ้าโพลีเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะต้องการใช้ปริมาณเอธานอลสำหรับการทำละลายในปริมาณที่มากกว่าโพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การใช้ปริมาณเอธานอลควรใช้เท่าที่จำเป็นสำหรับการทำละลาย เนื่องจาก การใช้ปริมาณเอธานอลมาก ย่อมมีโอกาสที่จะสูญเสียเอธานอลได้มากเช่นกัน ซึ่งรสชาติของเอธานอลค่อนข้างไวต่อการรับรสของผู้ป่วย (Braden, 1970a) ปริมาณเอธานอลมีอิทธิพลต่อระยะเวลาการเกิดเจล โดยระยะเวลาการเกิดเจลจะสั้นลงเมื่อใช้ปริมาณเอธานอลมากขึ้น (Jones และคณะ, 1986; Murata และคณะ, 1993) นอกจากนั้น ปริมาณเอธานอลยังส่งผลต่อความเสถียรทางมิติ (dimensional stability) ของวัสดุ เพราะหลังจากวัสดุก่อตัวแล้วยังมีการสูญเสียเอธานอลโดยการระเหยออกมาในอากาศ และ การละลายออกมาสู่น้ำ หรือน้ำลาย ทำให้วัสดุมีน้ำหนัก และปริมาตรลดลง หรือ มีการหดตัว (Jones และคณะ, 1986)

ตารางที่ 4 ปริมาณโดยน้ำหนักของพลาสติไซเซอร์และเอธานอลในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีกาซ โครมาโตกราฟี [ปรับปรุงจาก Jones และคณะ (1988)]

Materials	(wt %)						
	BB[1]	BS[2]	BBP[3]	BPBG[4]	DBP[5]	DBS[6]	ethanol
Coe Comfort	87.3	-	-	-	4.5	-	8.2
Coe Soft	-	35.1	-	-	49.7	-	15.2
Fitt	-	-	-	-	80.4	-	19.6
GC Softliner	-	-	-	80.9	4.3	-	14.8
Hydrocast	-	-	87.6	-	-	-	12.4
S R Ivoseal	-	-	-	-	-	51.9	48.1
Viscogel	-	-	-	86.9	8.2	-	4.9

[1] เบนซิล เบนโซเอต

[2] เบนซิล ซาลิไซเลต

[3] บิวทิล เบนซิล ธาเลต

[4] บิวทิล ธาลิล บิวทิล ไกลโคเลต

[5] ไดบิวทิล ธาเลต

[6] ไดบิวทิล ซีบาเคต

3. พลาสติไซเซอร์

พลาสติไซเซอร์ อยู่ในส่วนเหลวของวัสดุ โดยส่วนใหญ่ทางบริษัทผู้ผลิต ใช้พลาสติไซเซอร์ ตั้งแต่ 1 ชนิดขึ้นไป (ตารางที่ 4) พลาสติไซเซอร์มักเป็นสารกลุ่มเอสเทอร์ มีหลายชนิด ได้แก่ เบนซิล เบนโซเอต (benzyl benzoate) เบนซิล ซาลิไซเลต (benzyl salicylate) บิวทิล เบนซิล ธาเลต (butyl benzyl phthalate) บิวทิล ธาลิล บิวทิล ไกลโคเลต (butyl phthalyl butyl glycolate) ไดบิวทิล ธาเลต (dibutyl phthalate) ไดบิวทิล ซีบาเคต (dibutyl sebacate) เป็นต้น

หลังจากผสมส่วนผงและส่วนเหลวจนเกิดลักษณะเจล พลาสติไซเซอร์จะอยู่อย่างกระจายท่ามกลางเมทริกซ์ (matrix) ของโพลีเมอร์ พลาสติไซเซอร์ทำหน้าที่ช่วยลดแรงยึดระหว่างสายโพลีเมอร์ ทำให้สายโพลีเมอร์เคลื่อนไหวได้ วัสดุจึงมีความนุ่ม และทำให้ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสภาพแก้ว ของโพลีเมอร์ต่ำลง (Jones และคณะ, 1991) มีการศึกษาพบว่า น้ำหนักโมเลกุลของพลาสติไซเซอร์มีอิทธิพลต่อระยะเวลาการเกิดเจล โดยพลาสติไซเซอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า จะมีระยะเวลาการเกิดเจลสั้นกว่า (Jones และคณะ, 1986; Murata และคณะ, 1993)

ผลของการแช่วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในน้ำ

Braden และ Causton (1971) และ Braden และ Wright (1983) พบว่า เมื่อแช่เจลวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในช่องปากหรือในน้ำจะเกิดขบวนการแพร่ 2 แบบพร้อมกันคือ การละลาย (solubility) และการดูดซับน้ำ (water absorption) โดยช่วงแรกจะมีอัตราการละลายเร็วกว่าการดูดซับน้ำ และช่วงหลังจะมีอัตราการดูดซับน้ำเร็วกว่าการละลาย

1. การละลาย

<u>เอธานอล</u>

การละลายของเอธานอลออกมาจากวัสดุ เป็นขบวนการแพร่ที่เกิดขึ้นในอัตราที่รวดเร็วมาก Jones และคณะ (1988) พบว่า เอธานอลทั้งหมดจะถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุภายใน 24 ชั่วโมงในขั้นตอนการผสมและการแช่วัสดุในน้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พลาสติไซเซอร์

Jones และคณะ (1988) พบว่า อัตราการละลายออกของพลาสติไซเซอร์ ค่อนข้างช้าเพราะพลาสติไซเซอร์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเอสเทอร์ เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย และพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของพลาสติไซเซอร์ มีอิทธิพลต่อการละลายออกมา โดยทดลองแช่วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ 8 ผลิตภัณฑ์ ในน้ำ 37 องศาเซลเซียส ติดตามผล 14 วัน พบว่า พลาสติไซเซอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สุด (เบนซิล เบนโซเอต) จะมีการละลายออกมาในอัตราเร็วที่สุด และพบการละลายของพลาสติไซเซอร์ออกมาไม่เกินร้อยละ 2 ของปริมาณพลาสติไซเซอร์ตั้งต้น การละลายออกของพลาสติไซเซอร์เกิดขึ้นเนื่องจาก แรงยึดระหว่างโพลีเมอร์และพลาสติไซเซอร์มีค่าไม่เพียงพอ ร่วมกับมีการดูดน้ำเข้ามาในวัสดุด้วย จึงส่งเสริมการละลายของพลาสติไซเซอร์ออกไป สำหรับการบดเคี้ยวนั้น ไม่สามารถทำให้พลาสติไซเซอร์ ละลายออกมามากขึ้น

ของเหลวที่ใช้สำหรับแช่วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีอิทธิพลต่อการละลายออกมาของพลาสติไซเซอร์ด้วย Kazanji และ Watkinson (1988) พบว่า พลาสติไซเซอร์ละลายได้ค่อนข้างดีในสารละลายที่มีไอออน เพราะจากการทดลองแช่ชิ้นวัสดุในน้ำลายเทียมซึ่งมีปริมาณไอออนมากตรวจพบปริมาณ พลาสติไซเซอร์ละลายออกมามากกว่าการแช่ชิ้นวัสดุในน้ำกลั่น ซึ่งการละลายหรือ การสูญเสียองค์ประกอบออกไป ส่งผลให้วัสดุสูญเสียความนุ่ม กล่าวคือมีความแข็งมากขึ้น ดังนั้นวัสดุดังกล่าวจึงมีการใช้งานได้เพียงชั่วคราว Newsome และคณะ (1988) ศึกษาความนุ่มของวัสดุเมื่อแช่ในน้ำกลั่น โดยใช้ความรู้สึกของทันตแพทย์ 40 คน พบว่า ความนุ่มไม่เป็นที่พึงพอใจหลังจากแช่วัสดุในน้ำกลั่นเกิน 7 วัน ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Chase (1961) และ Pound (1962)

2. การดูดซับน้ำ

เมื่อเข้าสู่ช่วงหลัง จะมีการดูดซับน้ำอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน Ellis, Lamb และ McDonald (1979) พบว่า วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ โค คอมฟอร์ต มีการดูดซับน้ำอย่างต่อเนื่องนานถึง 4.68 เดือน อัตราการดูดซับน้ำขึ้นกับสารละลายที่วัสดุแช่อยู่ ดังการศึกษาของ Kazanji และ Watkinson (1988) พบว่า เมื่อนำวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อแช่ในน้ำกลั่น จะมีการดูดน้ำกลับมากกว่าวัสดุที่แช่ในน้ำลายเทียม ซึ่งอธิบายได้ด้วยหลักของแรงดันออสโมติก คือ น้ำกลั่นมีความเข้มข้นของไอออน (ionic strength) ต่ำกว่าวัสดุ ดังนั้นเมื่อแช่วัสดุในน้ำกลั่น น้ำจากภายนอกจึงเข้าสู่วัสดุเพื่อให้เกิดความสมดุลของไอออน ส่วนกรณีที่แช่น้ำลายเทียม ซึ่งมีความเข้มข้นของไอออนค่อนข้างสูง หรือมีความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของไอออนน้อย ย่อมมีการดูดน้ำเข้าสู่วัสดุได้น้อย

กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่ในน้ำกลั่น นอกจากนี้ อัตราการดูดซับน้ำยังขึ้นกับอุณหภูมิ และความหนาของวัสดุ (Braden และ Wright, 1983) และอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณของเอธานอลในองค์ประกอบของวัสดุด้วย (Jones และคณะ, 1988)

ผลของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อต่อการเติบโตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

Nikawa และคณะ (1994) ศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยใช้การผลิตกรดของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในการอ้างอิงถึงการเติบโตของเชื้อดังกล่าว โดย pH มีความสัมพันธ์กับจำนวนเชื้อ คือ pH ลดลง หรือความเป็นกรดมากขึ้นเมื่อจำนวนเชื้อมีมากขึ้น พบว่า วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีผลยับยั้งการผลิตกรดของ แคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ตามลำดับ คือ โค คอมฟอร์ต ฟิตต์ ซอฟเตอร์ วิสโคเจล โค ซอฟ ไฮโดรคาส และ จี ซี ซอฟไลเนอร์

ส่วนประกอบในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ อาจมีอยู่ในส่วนผงหรือส่วนเหลว ขึ้นกับการผสมสารบางอย่างที่มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อ สำหรับส่วนผง พบว่าโพลีเมอร์ไม่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อ (Nikawa, Yamamoto, และ Hamada, 1995) แต่ในบางผลิตภัณฑ์ เช่นโค คอมฟอร์ต มีซิงค์ อัลเด็คซิลลีเนต (zinc undecylenate) และฟิต ซอฟเตอร์ มีอะซูลีน (azulene) ผสมอยู่ในส่วนผงทำให้มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อ (Nikawa และคณะ, 1994) สำหรับส่วนเหลวนั้น ทั้งพลาสติไซเซอร์ และเอธานอล ต่างมีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้ในห้องปฏิบัติการ (Nikawa และคณะ, 1995)

Razek และ Mohamed (1980) ศึกษาในมนุษย์ ถึงอิทธิพลของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อต่อเชื้อในช่องปากเป็นเวลา 2 สัปดาห์โดยใช้วัสดุ 2 ผลิตภัณฑ์ พบว่า วิสโคเจล ไม่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อปกติในช่องปาก (normal flora) ในขณะที่ โค คอมฟอร์ต สามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียอย่างสมบูรณ์ ยกเว้น กลุ่มซูโดโมแนส (*Pseudomonas*) และ เคล็บเซียลลา (*Klebsiella*)

Okita และคณะ (1991) ศึกษาในมนุษย์ ถึงอิทธิพลของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อต่อเชื้อในช่องปากเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยใช้วัสดุ 2 ผลิตภัณฑ์ คือ จี ซี ซอฟไลเนอร์ และ เคอร์ ฟิตต์ พบว่าไม่มีผลต่อต้านการเติบโตของเชื้อจุลชีพ นอกจากนี้ ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการควบคู่ไปด้วย โดยใช้วัสดุ จี ซี ซอฟไลเนอร์ เคอร์ ฟิตต์ โค คอมฟอร์ต และ วิสโคเจล พบว่า ไม่มีผลต่อต้านการเติบโตของเชื้อจุลชีพ ยกเว้น โค คอมฟอร์ต ปรากฏบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เพียงเล็กน้อย

แม้วัสดุบางผลิตภัณฑ์จะมีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ เนื่องจากส่วนประกอบของวัสดุ แต่ธรรมชาติของวัสดุนั้นสามารถดูดซับน้ำได้ดี ดังนั้นสารอาหารจากของเหลวในช่องปากที่เข้าไปในเนื้อวัสดุ จึงอำนวยการเติบโตของแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ แม้ว่าวัสดุจะมีสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราอยู่ในส่วนประกอบก็ตาม นอกจากนี้ ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างคือ พื้นผิวมีรูพรุน และไม่เรียบ เมื่อเปรียบเทียบกับ อะคริลิก เรซินที่เกิดปฏิกิริยาด้วยความร้อน (heat polymerized acrylic resin) จึงง่ายต่อการยึดติดของเชื้อจุลชีพ (Mäkilä และ Hopsu – Havu, 1977)

การใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นตัวกลางในการนำพายาเพื่อรักษาการติดเชื้อรา

สภาพของช่องปากที่มีน้ำลาย และมีการทำความสะอาดตามธรรมชาติโดยกล้ามเนื้อต่างๆ ของช่องปากอยู่ตลอดเวลา ทำให้การใช้ยาเฉพาะที่ในช่องปากมีความเข้มข้นต่ำกว่าระดับการรักษา ดังนั้นหากมีวัสดุที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการนำพายาเพื่อให้ยาสามารถอยู่ในช่องปากได้ในระยะเวลานานและมีประสิทธิภาพเพียงพอในการรักษาเชื้อ ย่อมเป็นสิ่งที่พึงประสงค์

เริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อผสมกับยาต้านเชื้อรา เพื่อเป็นตัวกลางในการรักษาการติดเชื้อรา โดย Douglas และ Walker (1973) การศึกษานี้ ใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ เท็มโพ ผสมยานิสเตตินปริมาณ 182 มิลลิกรัมใส่ใต้ฐานฟันปลอมของผู้ป่วย เพื่อให้ยาได้สัมผัสกับบริเวณที่มีการติดเชื้อราตลอดเวลา นาน 3 สัปดาห์ พบว่า จำนวนเชื้อลดลงไม่ต่างจากผู้ป่วยกลุ่มควบคุมที่ให้การรักษาด้วยวิธีการธรรมดา คือ การอมยานิสเตตินชนิดเม็ดสำหรับช่องปาก ปริมาณ 114 มิลลิกรัม วันละ 4 ครั้ง นอกจากนั้นมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการควบคู่ไปด้วย พบว่า เมื่อผสมนิสเตตินปริมาณ 91 มิลลิกรัมลงในวัสดุ สามารถฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ ตั้งแต่ 4 วันนาน 3 สัปดาห์ และเมื่อผสมปริมาณ 182 มิลลิกรัมลงในวัสดุ สามารถฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ ตั้งแต่ 4 วันนาน 7 สัปดาห์

หลังจากนั้นมีการศึกษาในลักษณะดังกล่าว โดยเปรียบเทียบผลของยาต่างๆที่ผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ได้แก่ นิสเตติน แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) คีโตโคนาโซล และไมโคนาโซล ซึ่งต่างมีผลการศึกษาไปในทิศทางเดียวกัน คือ นิสเตตินให้ผลดีในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้เป็นระยะเวลานาน ดังการศึกษาของ Thomas และ Nutt (1978) ในห้องปฏิบัติการ ใช้ยานิสเตตินและ แอมโฟเทอริซิน บี ผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ วิสโคเจล พบว่า วัสดุที่ผสมแอมโฟเทอริซิน บี สามารถยับยั้งการเติบโตของแคนดิ

ดา อัลบิแคนส์ได้ร้อยละ 27 นาน 3 วัน ในขณะที่การผสมนิสเตตินปริมาณ 114 มิลลิกรัม ลงในวัสดุ มีผลยับยั้งอย่างสมบูรณ์ ตั้งแต่ 3 วันถึง 4 สัปดาห์ และเมื่อผสมนิสเตตินปริมาณ 227 มิลลิกรัม มีผลยับยั้งอย่างสมบูรณ์ ตั้งแต่ 3 วันนานถึง 6 สัปดาห์

Quinn (1985) ศึกษาในห้องปฏิบัติการด้วยการใช้ยาไมโคนาโซล คีโตโคนาโซล แอมโฟเทอริซิน บี และนิสเตติน ผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ไอโวซีล วิสโคเจล และฟิตต์ พบว่า แอมโฟเทอริซิน บี ปริมาณ 10 และ 20 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งการเติบโตของแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ไม่เกินร้อยละ 35 ภายใน 3 วัน ส่วนไมโคนาโซลปริมาณ 250 มิลลิกรัม คีโตโคนาโซลปริมาณ 200 มิลลิกรัม และนิสเตติน 114 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งการเติบโตอย่างสมบูรณ์ ตั้งแต่ 3 วันถึง 2 สัปดาห์ จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น (Douglas และ Walker, 1973; Thomas และ Nutt, 1978; Quinn, 1985) ล้วนแสดงให้เห็นว่า มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ผสมลงไปและความสามารถในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ คือ เมื่อใช้ปริมาณยาที่สูงกว่า จะมีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้นานกว่า

Schneid (1992) ศึกษาในห้องปฏิบัติการด้วยการใช้ยาต่างๆ ในปริมาณต่างๆ ได้แก่ คลอเฮ็กซิดีน คลอไตรมาโซล ฟลูโคนาโซล และนิสเตติน ผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อไลนัล พบว่า เมื่อใช้ปริมาณยาที่สูงกว่า จะมีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้นานกว่าเช่นกัน นอกจากนั้น พบว่านิสเตตินมีผลยับยั้งสูงสุดเมื่อเทียบกับยาอื่น จากการศึกษานี้ การผสมนิสเตติน 125 มิลลิกรัม ลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้ออย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ 3 สัปดาห์ถึง 6 สัปดาห์ และการผสมนิสเตติน 250 มิลลิกรัม และ 500 มิลลิกรัม ลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้ออย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ 1 สัปดาห์ถึง 6 สัปดาห์ ซึ่งแสดงว่าเมื่อใช้ปริมาณยาที่สูงกว่าจะมีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้เร็วกว่า

Schneid (1992) ศึกษาสมบัติทางกลของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อหลังจากที่ผสมยาต่างๆ พบว่า มีค่าความแข็ง (hardness) และค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength) เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนั้นในการทดสอบการฉีกขาดจากการดึง พบว่า การฉีกขาดเกิดอยู่ในเนื้อของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อโดยไม่เกิดการฉีกขาดตรงตำแหน่งระหว่าง วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ และอะคริลิก เรซินชนิดที่เกิดปฏิกิริยาด้วยความร้อน ซึ่งมักใช้ทำเป็นวัสดุฐานฟันปลอม แสดงให้เห็นว่า การผสมยาลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ไม่ส่งผลกระทบต่อแรงยึดระหว่างวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและฐานฟันปลอม

การศึกษาการปล่อยของยาออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในเชิงปริมาณ

การศึกษาในเชิงการวัดปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ยังมีไม่มากนัก Addy (1981) และ Patel และคณะ (2001) ศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยการใช้ยาคลอเฮ็กซิดีนผสมในวัสดุเสริมฐานฟันปลอมอย่างนุ่ม ในการศึกษาเหล่านี้ ได้ใช้วิธีการวัดปริมาณคลอเฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) แล้วคำนวณเป็นปริมาณคลอเฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยออกมา โดย Patel และคณะ (2001) สามารถหาปริมาณของคลอเฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยออกมาได้เกิน 14 วัน และพบว่าภายใน 1 วัน มีคลอเฮ็กซิดีนปลดปล่อยออกมาจากวัสดุประมาณร้อยละ 50 – 80 ของปริมาณคลอเฮ็กซิดีนที่ผสม แต่สำหรับยานิสเตตินนั้นยังไม่เคยมีการศึกษาในรูปแบบดังกล่าว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สารสำหรับการวิจัย

1. วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ (จี ซี ซอฟไลเนอร์, Lot 207052, Tokyo, Japan)
2. นิสเตติน (Sigma®, N 3503, Lot 33K0815, St. Louis, MO, U.S.A.)
3. เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ATCC 10231 (เอื้อเฟื้อจากรองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง สัตถาพร สิโรตมรัตน์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
4. อาหารเลี้ยงเชื้อแซบบูโร่ ชนิดน้ำและวุ้น [Sabouraud dextrose broth and agar (Difco®, Lot 1288009, Detroit, MI, U.S.A.)]
5. โปตัสเซียมฟอตเฟต บัฟเฟอร์ (potassium phosphate buffer) เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ pH 7.0
6. น้ำลายเทียม (Karantakis และคณะ, 2000) pH 7.0 ประกอบด้วย $CaCl_2$ 1 มิลลิโมลาร์, $NaH_2PO_4.2H_2O$ 1 มิลลิโมลาร์, NaCl 35 มิลลิโมลาร์ และ $CH_3COONa.3H_2O$ 15 มิลลิโมลาร์ ปรับ pH ด้วย KOH

ระเบียบวิธีวิจัย

ตอนที่ 1 การปลดปล่อยนิสเตติน

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. ทำชิ้นงานครั้งละ 1 ชิ้น เนื่องจาก ผู้วิจัยสามารถควบคุมการผสมและการเทชิ้นงานลงแม่แบบได้ภายในระยะเวลาการเกิดเจล [ระยะเวลาการเกิดเจลของ จีซี ซอฟไลเนอร์ มีค่า 2.5 ± 0.22 นาที ที่ 22 ± 2 องศาเซลเซียส (Murata และคณะ, 1993)] โดยกำหนดระยะเวลาตั้งแต่เริ่มผสมจนกระทั่งเทวัสดุลงแม่แบบให้เสร็จภายใน 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง 22-27 องศาเซลเซียส

2. การควบคุมขนาดและความหนาของชิ้นงาน นอกจากจะใช้แม่แบบแล้ว ยังร่วมกับการควบคุมด้วยการชั่งน้ำหนัก กำหนดให้ชิ้นงานแต่ละชิ้นต้องมีน้ำหนักใกล้เคียงกันมากที่สุด โดยกำหนดให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ยไม่เกินร้อยละ 1

3. การควบคุมการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของผงนิสเตติน (ผงสีเหลืองเข้ม) ในส่วนผงของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ (ผงสีขาว) โดยการใช้พายผสม (spatula) กวนให้ผง 2 ชนิดเข้ากันนาน 1 นาที ร่วมกับการสังเกตว่าผงทั้ง 2 ชนิดเข้ากันเป็นสีเหลืองอ่อนโดยสม่ำเสมอ

4. ปริมาณของนิสเตตินที่ใช้มี 2 ปริมาณ ได้แก่ นิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม

5. ระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ชิ้นงานนานที่สุด 8 วัน เนื่องจากลอกเลียนแบบลักษณะการใช้งานทางคลินิก

6. การทำงานอยู่ภายใต้สภาวะกึ่งไร้เชื้อ

ขั้นตอน

<u>การเตรียมแม่แบบ</u>

แม่แบบที่ใช้ทำด้วยพลาสติกซึ่งเฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยาเคมี มีรูปร่างเป็นวงแหวนเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซ็นติเมตร หนา 1.5 มิลลิเมตร เพื่อเลียนแบบความหนาที่ใช้ในทางคลินิก (Gent และ Lindley, 1959) ทำการวางแม่แบบลงบนแผ่นกระจก

<u>การเตรียมชิ้นงาน</u>

สำหรับกลุ่มทดลอง แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามปริมาณของนิสเตตินที่ผสมลงไป เริ่มด้วยการผสมส่วนผงของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและผงนิสเตตินให้เป็นเนื้อเดียวกันในบีกเกอร์ โดยการกวนด้วยพายผสมเป็นเวลานาน 1 นาที ต่อจากนั้นผสมกับส่วนเหลวตามสัดส่วนของส่วนผงต่อส่วนเหลวที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด (1 กรัม : 750 ไมโครลิตร หรือเทียบเท่ากับ 1.22 โดยน้ำหนัก) ในขณะเดียวกันเริ่มจับเวลา กวนส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเจลเนื้อเดียวกันด้วยพายผสม ตักลงใส่แม่แบบ โดยเริ่มจากจุดศูนย์กลางของแม่แบบ และปล่อยให้เจลไหลแผ่ หลังจากนั้นวางแท่นแก้วทับไว้เพื่อควบคุมให้เกิดชิ้นงานที่มีลักษณะเป็นแผ่นแบน ผิวเรียบ 2 ด้าน หนาสม่ำเสมอ 1.5 มิลลิเมตร ถึงขั้นตอนนี้ใช้เวลาตั้งแต่เริ่มจับเวลาไม่เกิน 2 นาที เนื่องจากต้องควบคุมเวลาให้อยู่ภายในระยะเวลาการเกิดเจล หลังจากนั้นนำชิ้นงานและวัสดุที่ค้างในบีกเกอร์เข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์สมบูรณ์ เพื่อลอกเลียนแบบสภาพในช่องปาก รอเป็นเวลา 20 นาที

เพื่อให้สามารถแกะชิ้นงานออกจากแม่แบบได้ ชั่งน้ำหนักชิ้นงานและวัสดุส่วนที่ค้างในบีกเกอร์ เนื่องจากค่าน้ำหนักที่วัดได้ จะใช้ในการคำนวณเป็นปริมาณของนิสเตตินในชิ้นงาน ในแต่ละกลุ่มทำชิ้นงานซ้ำเป็นจำนวน 5 ชิ้น โดยทั้ง 5 ชิ้น ต้องมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน กำหนดให้มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ยไม่เกินร้อยละ 1 สำหรับกลุ่มควบคุมทำตามวิธีข้างต้น จำนวน 3 ชิ้นโดยไม่ใส่นิสเตติน ชิ้นงานที่เตรียมเสร็จแล้ว เก็บไว้ในภาชนะปิดมิดชิด หลังจากทำชิ้นงานครบทุกชิ้น ทำการนำชิ้นงานแช่น้ำลายเทียมพร้อมกัน

<u>การนำชิ้นงานแช่น้ำลายเทียม</u>

เตรียมน้ำลายเทียมตามสูตรของ Karantakis และคณะ (2000) โดยสูตรดังกล่าวจะได้น้ำลายที่มีความใส และไม่รบกวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของนิสเตตินที่ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตร

ใส่น้ำลายเทียมปริมาณ 3 มิลลิลิตร ซึ่งท่วมชิ้นงานได้พอดีในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้น ใส่ชิ้นงาน 1 ชิ้น ปิดปากบีกเกอร์ด้วยแผ่นอะลูมิเนียมบาง (aluminium foil sheet) และผนึกขอบด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm sheet) เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำลายเทียมที่ชิ้นงานแช่อยู่ ห่อภาชนะบรรจุด้วยแผ่นอะลูมิเนียมบางเพื่อป้องกันแสง ใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าที่ความเร็ว 115 รอบ/นาที โดยกำหนดช่วงระยะเวลาในการเก็บน้ำลายเทียมที่ได้จากการแช่ที่ 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 1 วัน 2 วัน 4 วัน 6 วัน และ 8 วัน จากการทำการศึกษานำร่อง พบว่า นิสเตตินที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะมีค่าแปรเปลี่ยนมากในระยะแรก และค่อนข้างคงที่ในระยะหลัง ดังนั้น จึงติดตามเก็บน้ำลายเทียมในช่วงเวลาที่ค่อนข้างถี่ในระยะแรก จากเหตุผลดังกล่าว จึงเลือกเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 1 วัน และ 2 วัน ในระยะหลังเก็บน้ำลายเทียมในช่วงเวลานานขึ้น ช่วงละ 2 วัน จนครบ 8 วัน ซึ่งเวลาดังกล่าว ใกล้เคียงกับอายุการใช้งานของวัสดุ (Chase, 1961; Pound, 1962; Newsome และคณะ, 1988)

<u>การวัดความเข้มข้นของนิสเตตินที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากชิ้นงาน</u>

เมื่อครบกำหนดในแต่ละช่วงเวลา เก็บน้ำลายเทียมที่ผ่านการแช่ชิ้นงานจากบีกเกอร์ 40 ไมโครลิตร สำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเป็คโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer : Ultraspec 3000, Pharmacia Biotech) โดยทำการวัดซ้ำ 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ไมโครลิตร และบันทึกเป็นค่าเฉลี่ย คำนวณเป็นค่าความเข้มข้นของนิสเตตินด้วยสมการจาก

กราฟมาตรฐาน (standard graph)[7] ของความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียม และค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้น ทำการดูดน้ำลายเทียมที่ผ่านการแช่ชิ้นงานจากบีกเกอร์อีก 100 ไมโครลิตรเพื่อทดสอบการฆ่าเชื้อราต่อไป

ตอนที่ 2 การทดสอบการฆ่าเชื้อรา

การเก็บเชื้อรา

ใช้เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 10231 โดยเก็บเชื้อดังกล่าวที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส

การเตรียมเชื้อรา

ก่อนที่จะนำเชื้อมาใช้งานทุกครั้ง ต้องนำเชื้อมาเพาะเลี้ยงต่อ (subculture) ในน้ำอาหารแซบบูโร่ 1 วัน และวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 วัน ตามลำดับ เลือกโคโลนีจากวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร จำนวน 5 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารน้ำแซบบูโร่ เพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส ให้เข้าสู่ระยะล็อก (log phase) เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการปั่นให้เชื้อตกตะกอน ที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที แล้วดูดอาหารส่วนบนออกด้วยพาสเจอร์ ปิเปต (Pasteur pipette) หลังจากนั้น ทำการล้างอาหารเลี้ยงเชื้อออกก่อนที่จะทดสอบการฆ่าเชื้อราด้วยโปตัสเซียมฟอตเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ที่ความเข้มข้นดังกล่าว จะมีความเข้มข้นของไอออนใกล้เคียงกับน้ำลาย (Suddick, Hyde และ Feller, 1980) มี pH 7.0 โดยการใส่โปตัสเซียมฟอตเฟต บัฟเฟอร์ และเขย่า ทำการปั่นให้เชื้อตกตะกอนและล้างเชื้อ ตามวิธีดังกล่าวจำนวน 3 ครั้ง ต่อมาจึงใส่โปตัสเซียมฟอตเฟต บัฟเฟอร์ เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้มีค่า 1.6 ซึ่งจะทำให้มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $3.25X10^7$ CFU / มิลลิลิตร

การทดสอบการฆ่าเชื้อรา

เตรียมน้ำที่ได้จากการแช่ชิ้นงานกลุ่มควบคุม กลุ่มทดลอง และน้ำลายเทียม (กลุ่มอ้างอิง) ลงในหลอดทดลองผสมกับเชื้อที่เตรียมไว้ในปริมาตรที่เท่ากัน ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศา

[7] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก : การทำกราฟมาตรฐาน

เซลเซียส พร้อมเขย่าที่ความเร็ว 115 รอบ / นาที เพื่อให้เชื้อได้สัมผัสกับยาโดยทั่วกัน เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ต่อมาทำการเจือจาง 2,500 เท่า และดูดเชื้อออกมาเกลี่ยลงบนจานอาหารวุ้นแซบบูโร่ 3 จาน เพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 2 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ทำให้เชื้อโตเพียงพอที่จะสังเกตโคโลนีได้ ทำการนับโคโลนีที่รอดชีวิต และนำมาคิดเป็นร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต (percentage of cell viability) เทียบกับกลุ่มอ้างอิงซึ่งใช้การเพาะเชื้อกับน้ำลายเทียม ได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อของกลุ่มทดลอง หรือ กลุ่มควบคุม}}{\text{จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อของกลุ่มอ้างอิง}} \times 100$$

วิธีการคิดเป็นร้อยละของเชื้อที่ตาย ทำดังนี้

$$\text{ร้อยละของเชื้อที่ตาย} = 100 - \text{ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต}$$

<u>การทดสอบทางสถิติ</u>

ใช้การทดสอบชนิดใช้พาราเมตริก (parametric) แบบที (T-test) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปริมาณนิสเตติน 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในแง่ของความเข้มข้นนิสเตติน และใช้การทดสอบชนิดไม่ใช้พาราเมตริก (non-parametric) แบบแมน-วิทนีย์ (Mann-Whitney) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปริมาณนิสเตติน 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในแง่ของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต

<u>การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อราตาย (minimum fungicidal concentration)</u>

ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อราตาย ตามสภาวะที่ใช้ทดสอบการฆ่าเชื้อราที่กล่าวมาข้างต้น โดยเตรียมนิสเตตินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ในโปตัสเซียมฟอสเฟตบัพเฟอร์ ทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้งาน เมื่อจะนำมาทดสอบการฆ่าเชื้อรา จึงนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 40 36 30 และ 20 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ผสมกับเชื้อที่เตรียมไว้ในปริมาตรที่เท่ากัน โดยใช้น้ำลายเทียมเป็นตัวควบคุมลบ ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าที่ความเร็ว 115 รอบ / นาที เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ต่อมาทำการเจือจาง 2,500 เท่า และดูดเชื้อออกมาเกลี่ยลงบนจานอาหารวุ้นแซบบูโร่ 3 จาน เพาะเลี้ยง

ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 วัน ทำการนับโคโลนีที่รอดชีวิต ซึ่งนำมาคิดเป็นร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต (percentage of cell viability) ดังนี้

$$\text{ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อร่วมกับนิสเตตินความเข้มข้นต่างๆ}}{\text{จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อร่วมกับน้ำลายเทียม}} \times 100$$

หลังจากนั้น นำมาคิดเป็นร้อยละของเชื้อที่ตาย ดังนี้

$$\text{ร้อยละของเชื้อที่ตาย} = 100 - \text{ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต}$$

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อตาย (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) โดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของนิสเตตินที่ทำให้เชื้อตายเกือบสมบูรณ์หรือสมบูรณ์ (ร้อยละ 90-100)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การวัดการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน ด้วยเครื่องสเป็คโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลอง และการดูดกลืนแสงของการปลดปล่อยนิสเตตินในวัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม มีค่ามากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ทุกช่วงเวลา[8]

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณด้วยสมการจากกราฟมาตรฐาน[9] ได้ค่าความเข้มข้นสะสมเฉลี่ยของนิสเตตินดังตารางที่ 5 พบว่า การปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม มีค่าสูงกว่าการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 และเมื่อคำนวณเป็นร้อยละการปลดปล่อยนิสเตติน พบว่า การผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ให้ผลของร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินไม่แตกต่างกันทุกช่วงเวลา นอกจากนี้ ร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินสูงสุดภายในระยะเวลา 8 วัน มีค่าร้อยละ 0.98 และ 1.04 ตามลำดับ

จากรูปที่ 2 แสดงให้เห็นพฤติกรรมของการปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อทั้งสองปริมาณว่า มีอัตราการปลดปล่อยอย่างรวดเร็วในช่วง 1วันแรก และในระยะเวลาต่อมา อัตราการปลดปล่อยจะช้าลงเรื่อยๆ จนถึงระยะสมดุล ซึ่งใช้เวลาประมาณ 6 วัน หลังจากนั้น ในวันที่ 8 วัดความเข้มข้นนิสเตตินสะสมได้ลดลงเพียงเล็กน้อย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

---

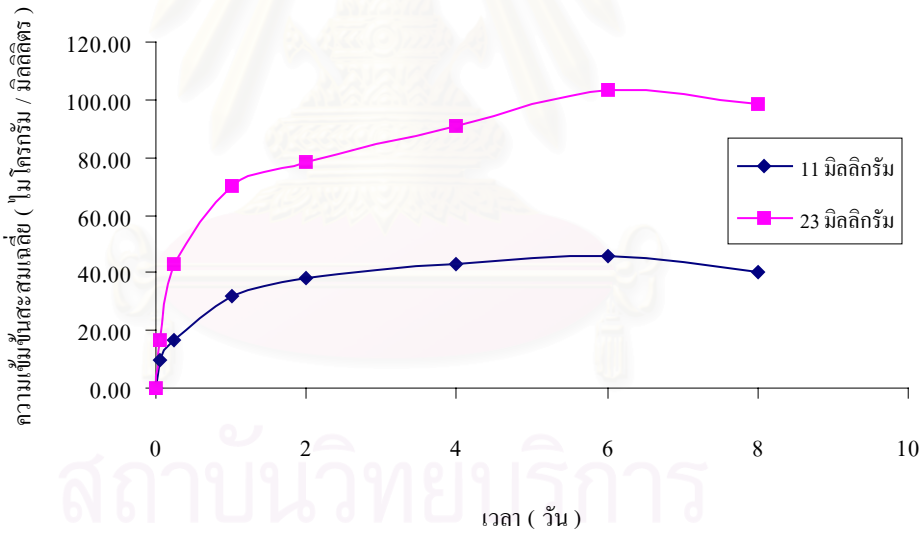
[8] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 8 และ 9

[9] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 16 และรูปที่ 4

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นสะสมเฉลี่ยและร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ความเข้มข้นสะสมเฉลี่ย [มก./มล.] [10](ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			ร้อยละการปลดปล่อย	
	11 มิลลิกรัม	23 มิลลิกรัม	ค่านัยสำคัญ[11]	11 มิลลิกรัม	23 มิลลิกรัม
1 ชั่วโมง	9.84 (0.70)	16.31 (2.67)	0.001*	0.28	0.22
6 ชั่วโมง	16.35 (3.23)	42.75 (7.14)	0.000*	0.44	0.54
1 วัน	32.08 (5.20)	70.39 (8.46)	0.000*	0.82	0.84
2 วัน	37.92 (2.40)	78.12 (8.74)	0.000*	0.91	0.89
4 วัน	42.75 (4.40)	90.63 (12.35)	0.000*	0.97	0.97
6 วัน	45.57 (7.32)	102.94 (13.59)	0.000*	0.98	1.04
8 วัน	40.47 (7.42)	98.59 (9.81)	0.000*	0.82	0.94

*หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแบบทีที่ระดับนัยสำคัญ 0.050 ระหว่างวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบในช่วงระยะเวลาเดียวกัน



รูปที่ 2 ความเข้มข้นสะสมเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน

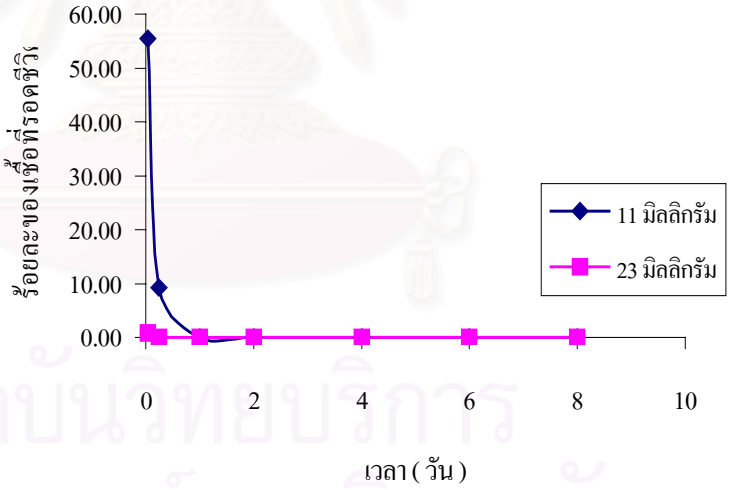
[10] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 10 และ 11

[11] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก : การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตอนที่ 2 การทดสอบการฆ่าเชื้อรา

เมื่อสังเกตจากผลการนับเชื้อจากตารางที่ 6 และรูปที่ 3 พบว่า ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ มีค่ามากกว่าการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะในชั่วโมงแรก โดยที่ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในกลุ่มควบคุม ไม่แตกต่างจากในกลุ่มอ้างอิง

จากตารางที่ 5 และ 6 พบว่าการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม ในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อให้ผลการฆ่าเชื้อราเกือบสมบูรณ์ (ร้อยละ 90.70) ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง ซึ่งวัดค่าความเข้มข้นของนิสเตตินเฉลี่ยได้ 16.35 ± 3.23 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และการผสมนิสเตตินปริมาณ 22.73 มิลลิกรัม ในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อให้ผลการฆ่าเชื้อราเกือบสมบูรณ์ (ร้อยละ 99.24) ตั้งแต่ชั่วโมงแรก ซึ่งวัดค่าความเข้มข้นของนิสเตตินเฉลี่ยได้ 16.31 ± 2.67 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ค่าดังกล่าวใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อราตายร้อยละ 97.55 – 100 ซึ่งมีค่า 15 – 20 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7



รูปที่ 3 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่รอดชีวิตเฉลี่ยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตเฉลี่ย จากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน ปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม และวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อกลุ่มควบคุม ในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	กลุ่มควบคุม[12]	กลุ่มทดลอง[13]		
		11 มิลลิกรัม	23 มิลลิกรัม	ค่านัยสำคัญ[14]
1 ชั่วโมง	92.17 (11.91)	55.44 (24.37)	0.76 (1.70)	0.007**
6 ชั่วโมง	115.13 (15.02)	9.30 (14.48)	0.00 (0.00)	0.136
1 วัน	112.20 (11.02)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	1.000
2 วัน	97.47 (18.73)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	1.000
4 วัน	111.00 (17.35)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	1.000
6 วัน	99.47 (18.73)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	1.000
8 วัน	92.80 (8.66)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	1.000

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแบบแมน-วิทนีย์ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.050 ระหว่างวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบในช่วงเวลาเดียวกัน

ตารางที่ 7 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตและตาย เมื่อสัมผัสกับนิสเตตินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของนิสเตติน (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)	ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต	ร้อยละของเชื้อที่ตาย
10	66.90	33.10
15	2.45	97.55
18	0.52	99.48
20	0.00	100.00

[12] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 14

[13] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 12 และ13

[14] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก : การวิเคราะห์ทางสถิติ

บทที่ 5

การอภิปรายและสรุปผล

การอภิปรายผล

การใส่ยาต้านเชื้อราลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ เพื่อรักษาอาการอักเสบใต้ฐานฟันปลอมเนื่องมาจากการติดเชื้อรานั้น ได้ถูกริเริ่มใช้มานานแล้ว Douglas และ Walker (1973) รายงานการใช้ยาต้านเชื้อรานิสเตตินปริมาณ 182 มิลลิกรัม ผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อให้ผู้ป่วย พบว่าการรักษาได้ผลสำเร็จตลอด 3 สัปดาห์ เทียบเท่ากับการรักษาโดยวิธีปกติ ซึ่งเป็นการให้อมยาเม็ดสำหรับช่องปากปริมาณ 114 มิลลิกรัม ทุก 6 ชั่วโมง และมีหลายการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ที่พบว่า นิสเตตินสามารถออกฤทธิ์ฆ่าหรือยับยั้งเชื้อราได้เป็นระยะเวลานานกว่าอายุการใช้งานของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ (Douglas และ Walker, 1973; Thomas และ Nutt, 1978; Quinn, 1985; Schneid, 1992) แม้ว่าการใช้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นตัวกลางในการนำพายาให้ผลการรักษาได้ไม่ต่างจากวิธีทั่วไป แต่เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาอาการติดเชื้อใต้ฐานฟันปลอม หรือโดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีความจำเป็นที่ต้องใส่ฟันปลอมหรือเฝือกผ่าตัด (surgical stent) ที่มีการเสริมวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลาค่อนข้างนาน เช่น ผู้ป่วยที่อยู่ในระยะหลังผ่าตัด ผู้ป่วยที่ใส่เครื่องมือช่วยในการออกเสียง ผู้ป่วยที่ใส่เครื่องมือปิดเพดาน เป็นต้น ผู้ป่วยเหล่านี้ มักมีความเสี่ยงกับการติดเชื้อราเฉพาะตำแหน่ง

การใช้นิสเตตินตามวิธีปกติโดยเฉพาะการอมกลั้วยาน้ำแขวนตะกอนนั้น เนื้อเยื่อที่มีการติดเชื้อจะได้สัมผัสกับยาในระยะเวลาอันสั้น และความเข้มข้นของยาจะลดลงทันทีหลังจากกลืนยาแล้ว เนื่องจากมีการชะล้างด้วยน้ำลายในช่องปากอยู่ตลอดเวลา หากผู้ป่วยละเลยการอมกลั้วทุก 6 ชั่วโมงตามวิธีการใช้ยา (ใช้ครั้งละ 23 มิลลิกรัม วันละ 4 ครั้ง) อาจทำให้เชื้อเจริญกลับคืนมาได้ ดังนั้น การใช้นิสเตตินชนิดเม็ดสำหรับช่องปาก ซึ่งต้องอมเป็นระยะเวลานาน หรือการใช้นิสเตตินผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ อาจเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยเหล่านี้

การใช้นิสเตตินผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ โดยให้วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการปลดปล่อยยานั้นยังคงมีปัญหาที่สำคัญ คือ ไม่สามารถประมาณปริมาณยาที่ควรใส่เพื่อให้ผลการฆ่าหรือยับยั้งเชื้อรามีประสิทธิภาพอยู่ตลอดระยะเวลาที่ใช้งาน และในขณะนี้ยังไม่สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาออกจากวัสดุได้ หากมีการปลดปล่อยยาในระดับต่ำกว่าระดับ

ของความเข้มข้นที่ใช้ในการรักษาเป็นระยะเวลานาน อาจเหนี่ยวนำให้เชื้อดื้อยาได้ ดังนั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาให้ชัดเจน ก่อนนำไปใช้ทางคลินิก

ในการศึกษานี้ เป็นการศึกษาครั้งแรกที่สามารถวัดการปลดปล่อยนิสเตตินในเชิงปริมาณได้ พบว่า การปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีอัตรารวดเร็วภายใน 1 วันแรก และยังคงมีการปลดปล่อยออกมาอีกตลอดเวลา ในอัตราที่ช้าลงเรื่อยๆ จนถึงระยะสมดุล (ตารางที่ 5 และ รูปที่ 2) ลักษณะดังกล่าวน่าจะเกี่ยวข้องกับการละลาย หรือสลายองค์ประกอบบางอย่างออกจากชิ้นงาน ดังการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเมื่อแช่น้ำลายเทียม[15] พบว่า น้ำหนักของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่แช่น้ำลายเทียม มีค่าลดลงในอัตราที่รวดเร็วภายใน 1 วันแรก สมมติฐานดังกล่าวนั้น อาจเกิดจากการละลายของเอธานอลออกจากชิ้นงานเป็นสาเหตุหลัก เนื่องจาก มีรายงานว่า การสูญเสียเอธานอลออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเกิดขึ้นโดยสมบูรณ์ภายใน 1 วัน ส่วนพลาสติไซเซอร์มีการละลายออกมาในอัตราที่ช้ามาก ประมาณ 0.30 – 8.70 มิลลิกรัม / กรัม ภายใน 14 วัน (Jones และคณะal, 1988) นอกจากนี้ ปริมาณนิสเตตินที่ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว อาจมาจากนิสเตตินบริเวณรอบนอกของพื้นผิววัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ได้สัมผัสกับน้ำลายเทียม ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่ายังมีการปลดปล่อยนิสเตตินในปริมาณต่ำจนกระทั่ง 6 วัน ซึ่งอาจมาจากมีการละลายของนิสเตตินพร้อมกับการเสื่อมสลายขององค์ประกอบของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อตามกาลเวลา เช่น พลาสติไซเซอร์ โพลีเมอร์ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม นิสเตตินโดยส่วนใหญ่น่าจะยังคงอยู่ภายในชิ้นงาน ซึ่งอาจเป็นเพราะนิสเตตินเป็นสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ มีสูตรโมเลกุล $C_{47}H_{75}NO_{17}$ คิดเป็นน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 926 ซึ่งมากกว่า พลาสติไซเซอร์ในจีซี ซอฟไลเนอร์ ได้แก่ บิวทิล ธาลิล บิวทิล ไกลโคเลท และไดบิวทิล ธาเลท ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 336 และ 278 ตามลำดับ รวมทั้งนิสเตตินเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย จึงมีการละลายออกมาในอัตราที่ช้ามาก

หลังจาก 6 วันพบว่า ค่าความเข้มข้นสะสม ของนิสเตตินกลับมีค่าลดลงเล็กน้อย ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของนิสเตตินเมื่อมีการสัมผัสกับสภาวะแวดล้อมของการทดลอง หรือองค์ประกอบของสารจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 305 นาโนเมตรลดลง

จากตารางที่ 5 และรูปที่ 2 แสดงให้เห็นว่า วัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัมจะมีการปลดปล่อยนิสเตตินออกมาได้มากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม อย่างมีนัย

---

[15] ดูเพิ่มเติมที่ภาคผนวก ตารางที่ 15

สำคัญทางสถิติตั้งแต่ชั่วโมงแรก และเมื่อคำนวณเป็นร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินจากวัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัมในแต่ละช่วงเวลา พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับร้อยละการปลดปล่อยนิสเตตินสูงสุดภายในระยะเวลา 8 วัน มีค่าประมาณร้อยละ 0.98 และ 1.04 ตามลำดับ แสดงว่า การปลดปล่อยของนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อค่อนข้างมีปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ใส่เข้าไป และปริมาณของนิสเตตินที่ใช้ผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อไม่น่าจะมีผลต่อร้อยละการปลดปล่อย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้การออกแบบการทดลองแบบปริมาณยาสะสม จึงไม่สามารถลอกเลียนสภาวะในช่องปากที่มีการชะล้างอยู่ตลอดเวลาได้ โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีสารคัดหลั่ง หรือมีเนื้อเยื่อตายปกคลุมจำนวนมาก เช่น ผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับการผ่าตัดศัลยกรรม ผู้ป่วยที่ใส่เครื่องมือปิดเพดาน ผู้ป่วยที่ใส่เครื่องมือช่วยออกเสียง เป็นต้น และในกรณีของการใส่ฟันปลอมชิ้นล่าง ซึ่งมีการชะล้างโดยน้ำลายภายใต้ฐานฟันปลอมอยู่ตลอดเวลา แต่อย่างไรก็ดี การออกแบบการทดลองในครั้งนี้ อาจมีความคล้ายคลึงกับสภาพในช่องปากของผู้ป่วยที่มีพฤติกรรมการใส่ฟันปลอมอยู่ตลอดเวลาในช่วง 6 ชั่วโมงแรก โดยเฉพาะฟันปลอมชิ้นบนซึ่งมีสภาวะค่อนข้างเป็นแบบปิด เนื่องจากน้ำลายรวมจากภายในช่องปากจะไม่สามารถไหลเข้าไปได้โดยง่ายนัก มีเพียงการไหลของน้ำลายจากต่อมน้ำลายที่เพดาน (palatal gland) ที่อยู่ภายใต้ฟันปลอม ซึ่งมีอัตราการหลั่งขณะพักค่อนข้างต่ำ คือ มีค่าประมาณ 3.69 $\pm$ 4.30 ไมโครลิตร / ตารางเซ็นติเมตร / นาที (Niedermeier และ Krämer, 1992) จากการคำนวณปริมาณนิสเตตินสะสมที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม ในระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า มีค่าประมาณร้อยละ 0.44 และ 0.54 ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลนี้น่าจะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ใช้อ้างอิงในกรณีที่ใส่ฟันปลอมชิ้นบนตลอดระยะเวลา 6 ชั่วโมงได้

จากตารางที่ 5 และ 6 พบว่า เมื่อทดสอบการฆ่าเชื้อราของน้ำลายเทียมที่แช่วัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม พบว่ามีการฆ่าเชื้อราเกือบสมบูรณ์ (ร้อยละ 99.24) ตั้งแต่ในชั่วโมงแรก ซึ่งวัดความเข้มข้นของนิสเตตินได้ 16.31 $\pm$ 2.67 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และเมื่อทดสอบกับน้ำลายเทียมที่แช่วัสดุที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม พบว่ามีการฆ่าเชื้อราได้ร้อยละ 44.56 ในชั่วโมงแรก ซึ่งวัดความเข้มข้นของนิสเตตินได้ 9.84 $\pm$ 0.70 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อราได้เกือบสมบูรณ์ (ร้อยละ 90.70) ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง ซึ่งวัดความเข้มข้นนิสเตตินได้ 16.35 $\pm$ 3.23 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ในชั่วโมงแรกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต เมื่อเปรียบเทียบระหว่างนิสเตตินทั้งสองปริมาณที่ผสมในวัสดุ ดังนั้น ปริมาณของนิสเตตินที่ใช้ผสมจึงมีผลต่อการฆ่าเชื้อราในชั่วโมงแรก โดยการใช้นิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัมผสมในวัสดุ ทำให้มีร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตน้อยกว่าการใช้

นิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมผสมในวัสดุ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณยาทั้งสองที่ใช้ผสม ต่างทำให้เชื้อตายสมบูรณ์ได้ตลอด 8 วัน ซึ่งข้อมูลนี้อาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในทางคลินิกได้ กล่าวคือ การใช้นิสเตตินในปริมาณที่ต่ำกว่าปกติผสมลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ฉาบใต้ฐานฟันปลอม สามารถฆ่าเชื้อราอย่างสมบูรณ์ได้ หากมีการใส่ฟันปลอมเป็นระยะเวลานานพอจนก่อให้เกิดความเข้มข้นนิสเตตินสะสมถึงระดับที่ทำให้เชื้อตาย

ความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุในระยะเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ ความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุในระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม มีค่า 16.35 $\pm$3.23 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และ 16.31 $\pm$ 2.67 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นระดับดังกล่าวให้ผลการฆ่าเชื้อราเกือบสมบูรณ์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับช่วงของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อตายร้อยละ 97.55 - 100 ที่หาได้จากการศึกษาครั้งนี้ คือ 15 – 20 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร (ตารางที่ 7) [ค่าดังกล่าวใกล้เคียงกับการศึกษาของ Gunderson และคณะ (2000) หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อตายสมบูรณ์มีค่าประมาณ 8-16 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร] แสดงว่า วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อไม่น่าจะทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนั้น จากตารางที่ 6 พบว่าร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อในกลุ่มควบคุม ไม่ต่างจากในกลุ่มอ้างอิง แสดงให้เห็นว่าวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อไม่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อรา

การผสมนิสเตตินในปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัมในวัสดุ และใช้งานตั้งแต่ 6 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ สามารถฆ่าเชื้อราได้เกือบสมบูรณ์ ดังนั้นโอกาสที่เชื้อราจะมีการเจริญกลับคืนมีได้น้อย และไม่น่ามีโอกาสที่เชื้อจะเกิดการดื้อยา และหากมีการใช้งานจริงในช่องปากโดยใช้นิสเตตินปริมาณดังกล่าวผสมในวัสดุแล้ว ความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยนั้นไม่น่าจะมีโอกาสที่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อผู้ป่วย เพราะนิสเตตินเป็นยาที่ปลอดภัยเมื่อใช้ทางช่องปาก ซึ่งมีค่า LD_{50} มากกว่า 3,500 มิลลิกรัม / กิโลกรัม (Hamilton-Miller, 1973) นอกจากนั้น ในช่องปากมีการชะล้างของน้ำลายจนระดับความเข้มข้นของนิสเตตินอาจต่ำกว่าระดับความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อตาย ซึ่งอาจทำให้มีการเจริญกลับคืนของเชื้อได้ ดังนั้นควรมีการเปลี่ยนวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินใหม่ให้กับผู้ป่วยด้วย เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของนิสเตตินให้สูงกว่าระดับความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อตาย

การศึกษานี้ทำให้ทราบว่าการผสมนิสเตตินลงในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาอาการติดเชื้อใต้ฐานฟันปลอมได้ อย่างไรก็ดี ควรทำการออกแบบการทดลองที่ลอกเลียนแบบสภาพในช่องปากได้จริงโดยคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อัตราการหลั่งและการกลืน

น้ำลาย ปริมาตรและเวลาที่น้ำลายคงอยู่ในช่องปาก ระดับความเข้มข้นของยาในช่องปากในช่วงระยะเวลาต่างๆ นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงโพลีเมอร์ให้เพิ่มขีดความสามารถในการปลดปล่อยยาให้มีปริมาณสูงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะทำให้เกิดประสิทธิภาพของการรักษาสูงสุด คือ มีปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยออกมาสูงและนานพอในการรักษา โดยไม่ทำให้เชื้อเกิดการดื้อยา

การตรวจวัดการปลดปล่อยของนิสเตตินด้วยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 305 นาโนเมตร น่าจะเป็นวิธีการที่สะดวกและมีความน่าเชื่อถือ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับนิสเตตินที่ยังคงตกค้างอยู่ในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อนั้นด้วย ได้แก่ การหาวิธีที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณของนิสเตตินที่ตกค้างอยู่ และศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินตกค้างเหล่านั้น

ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาสัดส่วนของนิสเตติน : ส่วนผง : ส่วนเหลวของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ต่อการปลดปล่อยนิสเตตินด้วย สำหรับการศึกษานี้ใช้สัดส่วนสำหรับผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม เป็น 21.30 มิลลิกรัม : 1 กรัม : 750 ไมโครลิตร และ 48.40 มิลลิกรัม : 1 กรัม : 750 ไมโครลิตร ตามลำดับ ซึ่งสัดส่วนนี้ให้ความสะดวกในการใช้งาน โดยมีระยะเวลาการเกิดเจลอยู่ในช่วงที่กำหนด คือ 2.5 $\pm$ 0.22 นาที (Murata และคณะ, 1993) นอกจากนั้น ควรมีการศึกษาถึงปัจจัยของขนาดพื้นที่ผิวของชิ้นงานวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อต่อการปลดปล่อยนิสเตตินด้วย สำหรับสมบัติทางกลของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่มีการผสมนิสเตติน ได้แก่ ความทนความแข็งแรงดึงระหว่างวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อและวัสดุฐานฟันปลอม อะคริลิก ความแข็งแรงต่อการฉีกขาด และความนุ่มของวัสดุ เป็นสิ่งที่ควรศึกษาต่อไปเช่นกัน

การสรุปผล

1. การศึกษานี้ทำให้ทราบพฤติกรรมของการปลดปล่อยนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อได้อย่างชัดเจน ซึ่งมีอัตราการปลดปล่อยรวดเร็วภายใน 1 วันแรก และยังคงมีการปลดปล่อยอีกตลอดเวลาในอัตราที่ช้าลงเรื่อยๆ จนถึงระยะสมดุลในวันที่ 6 - 8

2. ปริมาณนิสเตตินที่ผสมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีผลต่อปริมาณการปลดปล่อย โดยการใช้นิสเตตินปริมาณสูงผสมในวัสดุ ทำให้มีปริมาณการปลดปล่อยนิสเตตินออกมามากกว่าการใช้นิสเตตินปริมาณต่ำ แต่ไม่มีผลต่อร้อยละการปลดปล่อย สำหรับการปลดปล่อยสูงสุดของนิสเตตินออกจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ผสม กล่าวคือ มีค่าประมาณร้อยละ 0.98 – 1.04

3. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัมและ 11 มิลลิกรัมนั้นอยู่ในระดับที่ฆ่าเชื้อได้เกือบสมบูรณ์ตั้งแต่ชั่วโมงแรก และอยู่ในระดับที่ฆ่าเชื้อได้เกือบสมบูรณ์ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนั้น วัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อไม่ทำให้ประสิทธิภาพของนิสเตตินต่อการฆ่าแชื้อราเปลี่ยนไป หรือประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุมีค่าใกล้เคียงกับประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อราของนิสเตตินมาตรฐาน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, ยาหยีศรีเฉลิม ศิลปบรรเลง และรัชชพิน เหล่าวานิช. 2531. ความชุกของแคนดิดา และการอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณใต้ฐานฟันปลอมในผู้ที่ใส่ฟันปลอมทั้งปาก. ว. ทันต 34: 1 – 8.

ภาษาอังกฤษ

Addy, M. 1981. *In vitro* studies into the use of denture base and softliner materials as carriers for drugs in the mouth. J Oral Rehabil 8: 131 – 142.

Arendorf, T. M., and Walker, D. M. 1980. The prevalence and intra oral distribution of *Candida albicans* in man. Arch Oral Biol 25: 1 – 10.

Arjuna, N. B., Ellepola, A. N. B., and Samaranayake, L. P. 1998. Adhesion of oral *Candida albicans* isolates to denture acrylic following limited exposure to antifungal agents. Arch Oral Biol 43: 999 – 1007.

Bennett, J. E. 2001. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw – Hill.

Bobichon, H., and Bouchet, P. 1987. Action of chlorhexidine on budding *Candida albicans*: Scanning and transmission electron microscopic study. Mycopathologia 100: 27 – 35. Cited in Ellepola, A. N. B., and Samaranayake, L. P. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidosis: Review. Oral Dis 7: 11 – 17, 2001.

Braden, M. 1970a. Tissue conditioners I. Composition and structure. J Dent Res 49: 145 – 148.

Braden, M. 1970b. Tissue conditioners II. Rheologic properties. J Dent Res 49: 496 – 501.

Braden, M., and Causton, B. 1971. Tissue conditioners III. Water immersion characteristics. J Dent Res 50: 1544 – 1547.

Braden, M., and Clarke, R. L. 1972. Viscoelastic properties of soft lining materials. J Dent Res 51: 1525 – 1528.

Braden, M., and Wright, P. S. 1983. Water absorption and solubility of soft lining materials for acrylic dentures. J Dent Res 62: 764 – 768.

Braden, M., Wright, P. S., and Parker, S. 1995. Soft lining materials – a review. Eur J Prosthodont Rest Dent 3: 163 – 174.

Budavaris, O. M. J., Smith, A., and Heckelman, P. E. 1989. The Merk Index. 11th ed. New Jersey: Universal Copyright Convention.

Budtz – Jörgensen, E., and Bertram, U. 1970. Denture stomatitis. I. The etiology in relation to trauma and infection. Acta Odontol Scand 28: 71 – 92.

Budtz – Jörgensen, E., and Loe, H. 1972. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. Scand J Dent Res 80: 457 – 464.

Budtz – Jörgensen, E. 1990. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infections. Acta Odontol Scand 48: 61 – 69.

Budtz – Jörgensen, E., and Lombardi, T. 1996. Antifungal therapy in the oral cavity. Periodontol 2000 10: 89 – 105.

Cannon, R. D., Holmes, A. R., Mason, A. B., and Monk, B. C. 1995. Oral *Candida*: Clearance, colonization, or candidiasis ?. J Dent Res 74: 1152 – 1159.

Chase, W. W. 1961. Tissue conditioning utilizing dynamic adaptive stress. J Prosthet Dent 11: 804 – 815.

Diamond, R. D. 1993. Interactions of phagocytic cells with *Candida* and other opportunistic fungi. Arch Med Res 24: 361 – 369.

Douglas, W. H., and Walker, D. M. 1973. Nystatin in denture liners – an alternative treatment of denture stomatitis. Br Dent J, 135: 55 – 59.

Douglas, L. J. 1985. Adhesion of pathogenic *Candida* species to host surfaces. Microbiol Sci 2: 243 –247. Cited in Radford, D. R., Challacombe, S. J., and Walter, J. D. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture base materials. Crit Rev Oral Biol Med 10: 99 – 116, 1999.

Ellepola, A. N. B., and Samaranayake, L. P. 1998. The effect of limited exposure to antifungal agents on the germ tube formation of *Candida albicans.* J Oral Pathol Med 27: 213 - 219.

Ellepola, A. N. B., and Samaranayake, L. P. 1999. The *in vitro* post – antifungal effect of nystatin on *Candida* species of oral origin. J Oral Patho Med 28: 112 – 116.

Ellepola, A. N. B., and Samaranayake, L. P. 2001. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidosis: Review. Oral Dis 7: 11 – 17.

Ellis, B., Lamb, D. J., and McDonald, M. P. 1979. A study of the composition and diffusion characteristics of a soft liner. J Dent 7: 133 – 140.

Epstein, J. B. 1990. Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 69: 32 – 41.

Gent, A. N., and Lindley, P. B. 1959. The compression of bonded rubber blocks. Proc Inst Mech Eng 173: 111 – 117. Cited in Wright, P. S. Soft lining materials: Their status and prospects. J Dent 4: 247 – 256, 1976.

Graham, B. S., Jones, D. W., and Sutow, E. J. 1989. Clinical implications of resilient denture lining materials research. Part I: Flexibility and elasticity. J Prosthet Dent 62: 421 – 428.

Gunderson, S. M., Hoffman, H., Ernst, E. J., Pfaller, M. A., and Klepser, M. E. 2000. *In vitro* pharmacodynamic characteristics of nystatin including time-kill and post antifungal effect. Antimicrob Agents Chemother 52: 65 – 70.

Hamilton-Miller, J. M. T. 1973. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. Bacteriol Rev 37: 166 – 196.

Hopkins, R. 1987. A colour atlas of preprosthetic oral surgery. Singapore: Toppan Printing.

Jones, D. W., Sutow, E. J., Graham, B. S., Milne, E. L., and Johnston, D. E. 1986. Influence of plasticizer on soft polymer gelation. J Dent Res 65: 634 – 642.

Jones, D. W., Sutow, E. J., Hall, G. C., Tobin, W. M., and Graham, B. S. 1988. Dental soft polymers: Plasticizer composition and reachability. Dent Mater 4: 1 – 7.

Jones, D. W., Hall, G. C., Sutow, E. J., Langman, M. F., and Robertson, K. N. 1991. Chemical and molecular weight analysis of prosthodontic soft polymer. J Dent Res 70: 874 – 879.

Karantakis, P., Helvatjoglou – Antoniades, M., Papadogiannis, Y., and Theodoridou – Pahini, S. 2000. Fluoride release from three glass ionomers, a compomer and a composite resin in water, artificial saliva and lactic acid. Oper Dent 25: 20 – 25.

Kazanji, M. N. M., and Watkinson, A. C. 1988. Soft lining materials: Their absorption of, and solubility in, artificial saliva. Br Dent J 165: 91 – 94.

Lodge, A. S. 1964. Elastic liquids. London: Academic Press. Cited in Parker, S., and Braden, M. Formulation of tissue conditioners. Biomaterials 11: 579 – 584, 1990.

Mäkilä, E., and Hopsu – Havu, V. K. 1977. Mycotic growth and soft denture lining materials. Acta Odontol Scand 35: 197 – 205.

Murata, H., Iwanaka, H., Shigeto, N., and Hamada T. 1993. Initial flow of tissue conditioners – influence of composition and structure on gelation. J Oral Rehabil 20: 177 – 187.

Murata, H., McCabe, J. F., Jepson, N. J., and Hamada, T. 1996. The influence of immersion solutions on the viscoelasticity of temporary soft lining materials. Dent Mater 12: 19 – 24.

Murata, H., Hamada, T., Djulaeha, E., and Nikawa, H. 1998. Rheology of tissue conditioners. J Prosthet Dent 79: 188 – 199.

Muzuka, B. C., and Glick, M. 1995. A review of oral fungal infections and appropriated therapy. J Am Dent Assoc 126: 63 – 72.

Närhi, T. O., Ainamo, A., and Meurman, J. H. 1993. Salivary yeast, saliva and oral mucosa in eldery. J Dent Res 72: 1009 – 1014.

Newsome, P. R. H., Basker, R. M., Bergman, B., and Glantz, P. 1988. The softness and initial flow of temporary soft lining materials. Acta Odontol Scand 46: 10 – 17.

Niedermeier, W. H. W., and Krämer, R. 1992. Salivary secretion and denture retention. J Prosthet Dent 67: 211 – 216.

Nikawa, H., Iwanaka, H., Kameda, M., and Hamada T. 1992. *In vitro* evaluation of *Candida albicans* adherence to soft denture – lining materials. J Prosthet Dent 68: 804 – 808.

Nikawa, H., Yamamoto, T., Hayashi, S., Nikawa, Y., and Hamada, T. 1994. Growth and / or acid production of *Candida albicans* on soft lining materials *in vitro*. J Oral Rehabil 21: 585 – 594.

Nikawa, H., Yamamoto, T., and Hamada, T. 1995. Effect of components of resilient denture – lining materials on the growth, acid production and colonization of *Candida albicans*. J Oral Rehabil 22: 817 – 824.

Odds, F. C. 1988. *Candida* and candidosis. 2nd ed. London: Baillière&Tindall. Cited in Cannon, R. D., Holmes, A. R., Mason, A. B., and Monk, B. C. Oral C*andida*: Clearance, colonization, or candidiasis ?. J Dent Res 74: 1152 – 1159, 1995.

Okita, N., Ørstavik, D., Ørstavik, J., and Østby, K. 1991. *In vivo* and *in vitro* studies on soft denture materials: Microbial adhesion and tests for antibacterial activity. Dent Mater 7: 155 – 160.

Olsen, I. 1975. Denture stomatitis – the clinical effects of chlohexidine and amphotericin B. Acta Odontol Scand 33: 47 - 52.

Parvinen, T. 1984. Simulated salivary flow rate, pH and lactobacillus and yeast concentrations in persons with different types of dentition. Scand J Dent Res 92: 412 – 418.

Parker, S., and Braden, M. 1990. Formulation of tissue conditioners. Biomaterials 11: 579 – 584.

Patel, M. P., Cruchley, A. T., Coleman, D. C., Swai, H., Braden, M., and Williams, D. M. 2001. A polymeric system for the intra – oral delivery of anti – fungal agent. Biomaterials 22: 2319 – 2324.

Pound, E. 1962. Conditioning of denture patients. J Am Dent Assoc 64: 461 – 468.

Quinn, D. M. 1985. The effectiveness, *in vitro*, of miconazole and ketoconazole combined with tissue conditioners in inhibiting the growth of *Candida albicans*. J Oral Rehabil 12: 177 – 182.

Razek, M. K. A., and Mohamed, Z. M. 1980. Influence of tissue conditioning materials on the oral bacteriologic status of complete denture wearers. J Prosthet Dent 44: 137 – 142.

Samaranayake, L. P., McCourtie, J., and MacFarlane, T. W. 1980. Factors affecting the *in vitro* adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. Arch Oral Biol 25: 611 – 615.

Schneid, T. R. 1992. An in *vitro* analysis of sustained release system for the treatment of denture stomatitis. Spec Care Dent 12: 245 – 250.

Sherman, R. G., Prusinski, L., Ravenel, M. C., and Joralmon, R. A. 2002. Oral candidosis. Quintessence Int 33: 521 – 532.

Sigma. Product information [Online]. Missouri: Sigma-Aldrich. 2002. http://www.sigma-aldrich.com[2002, May 27]

Suddick, R. P., Hyde, R. J., and Feller, R. P. 1980. Salivary, water, electrolytes and oral health: The biological basis of dental caries. An oral biology text book. Hagerstown: Harper&Row. Cited in Xu, T., Levitz, S. M., Diamond, R. D., and Oppenheim, F. G. Anticandidal activity of major salivary histatin. Infect Immun 59: 2549 – 2554, 1991.

Thomas, C. T. and Nutt, G. M. 1978. The *in vitro* fungicidal properties of Viscogel alone and combined with nystatin and amphotericin B. J Oral Rehabil 5: 167 – 172.

Watt, D. M. 1960. Morphological changes in the denture bearing area following the extraction of maxillary teeth. Doctoral dissertation. University of Edinburgh. Cited in Harrison, A. Temporary soft lining materials: Review of their uses. Br Dent J 151: 419 – 422, 1981.

Wilson, P., and Stewart A. 2001. Liquid chromatographic determination of nystatin in pharmaceutical preparations. J AOAC Int 84: 1050 – 1055.

Wright, P. S. 1976. Soft lining materials: Their status and prospects. J Dent 4: 247 – 256.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และกลุ่มควบคุม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยกลุ่มควบคุม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ค่าดูดกลืนแสง (305 นาโนเมตร)						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
		ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย		
1 ชั่วโมง	0.005 (0.003)	0.051	0.056	0.048	0.047	0.049	0.050	0.004	7.10
6 ชั่วโมง	0.003 (0.004)	0.070	0.090	0.078	0.070	0.109	0.083	0.016	19.77
1 วัน	0.003 (0.004)	0.129	0.159	0.159	0.203	0.168	0.164	0.027	16.20
2 วัน	0.002 (0.007)	0.203	0.180	0.201	0.203	0.180	0.193	0.012	6.34
4 วัน	0.002 (0.005)	0.210	0.213	0.224	0.191	0.252	0.218	0.022	10.28
6 วัน	0.003 (0.005)	0.234	0.267	0.233	0.171	0.257	0.232	0.037	16.06
8 วัน	0.004 (0.003)	0.245	0.205	0.216	0.144	0.222	0.206	0.038	18.32

ตารางที่ 9 ค่าการดูดกลืนแสงของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม และกลุ่มควบคุม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยกลุ่มควบคุม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ค่าดูดกลืนแสง (305 นาโนเมตร)						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
		ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย		
1 ชั่วโมง	0.005 (0.003)	0.076	0.078	0.087	0.105	0.070	0.083	0.014	16.38
6 ชั่วโมง	0.003 (0.004)	0.187	0.200	0.190	0.268	0.245	0.218	0.036	16.69
1 วัน	0.003 (0.004)	0.323	0.374	0.338	0.428	0.332	0.359	0.043	12.02
2 วัน	0.002 (0.007)	0.376	0.409	0.354	0.383	0.470	0.398	0.045	11.19
4 วัน	0.002 (0.005)	0.409	0.473	0.388	0.538	0.503	0.462	0.063	13.62
6 วัน	0.003 (0.005)	0.500	0.575	0.425	0.603	0.522	0.525	0.069	13.20
8 วัน	0.004 (0.003)	0.505	0.547	0.447	0.458	0.557	0.503	0.050	9.95

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ค่าความเข้มข้นสะสมของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ค่าความเข้มข้น (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
	ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย		
1 ชั่วโมง	10.000	10.980	9.412	9.216	9.608	9.843	0.699	7.10
6 ชั่วโมง	13.725	17.647	15.294	13.725	21.373	16.353	3.233	19.77
1 วัน	25.294	31.176	31.176	39.804	32.941	32.078	5.198	16.20
2 วัน	39.804	35.294	39.412	39.804	35.294	37.922	2.404	6.34
4 วัน	41.176	41.765	43.922	37.451	49.412	42.745	4.395	10.28
6 วัน	45.882	52.353	45.686	33.529	50.392	45.569	7.320	16.06
8 วัน	48.039	40.196	42.353	28.235	43.529	40.471	7.416	18.32

ตารางที่ 11 ค่าความเข้มข้นสะสมของนิสเตตินที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม วัดในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลาสะสม	ค่าความเข้มข้น (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
	ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย		
1 ชั่วโมง	14.902	15.294	17.059	20.588	13.725	16.314	2.672	16.38
6 ชั่วโมง	36.667	39.216	37.255	52.549	48.039	42.745	7.136	16.69
1 วัน	63.333	73.333	66.275	83.922	65.098	70.392	8.463	12.02
2 วัน	73.725	80.196	69.412	75.098	92.157	78.118	8.741	11.19
4 วัน	80.196	92.745	76.078	105.490	98.627	90.627	12.348	13.62
6 วัน	98.039	112.745	83.333	118.235	102.353	102.941	13.591	13.20
8 วัน	99.020	107.255	87.647	89.804	109.216	98.588	9.812	9.95

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม

เวลาสะสม	ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย	
1 ชั่วโมง	75.00	16.60	62.80	74.80	48.00	55.44	24.37
6 ชั่วโมง	33.00	0.00	0.00	13.50	0.00	9.30	14.48
1 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 13 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตตินปริมาณ 23 มิลลิกรัม

เวลาสะสม	ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต						ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ชิ้นที่1	ชิ้นที่2	ชิ้นที่3	ชิ้นที่4	ชิ้นที่5	ค่าเฉลี่ย	
1 ชั่วโมง	0.00	0.00	0.00	0.00	3.80	0.76	1.70
6 ชั่วโมง	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8 วัน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ร้อยละของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่รอดชีวิตจากกลุ่มควบคุม

เวลาสะสม	ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย		
1 ชั่วโมง	80.00	103.80	92.70	92.17	11.91	12.92
6 ชั่วโมง	99.00	128.70	117.70	115.13	15.02	13.04
1 วัน	122.80	100.80	113.00	112.20	11.02	9.82
2 วัน	103.00	77.80	114.40	98.40	18.73	19.03
4 วัน	107.30	129.90	95.80	111.00	17.35	15.63
6 วัน	116.50	90.30	91.60	99.47	14.77	14.84
8 วัน	83.00	96.00	99.40	92.80	8.66	9.33

สถาบันวิทยบริการ

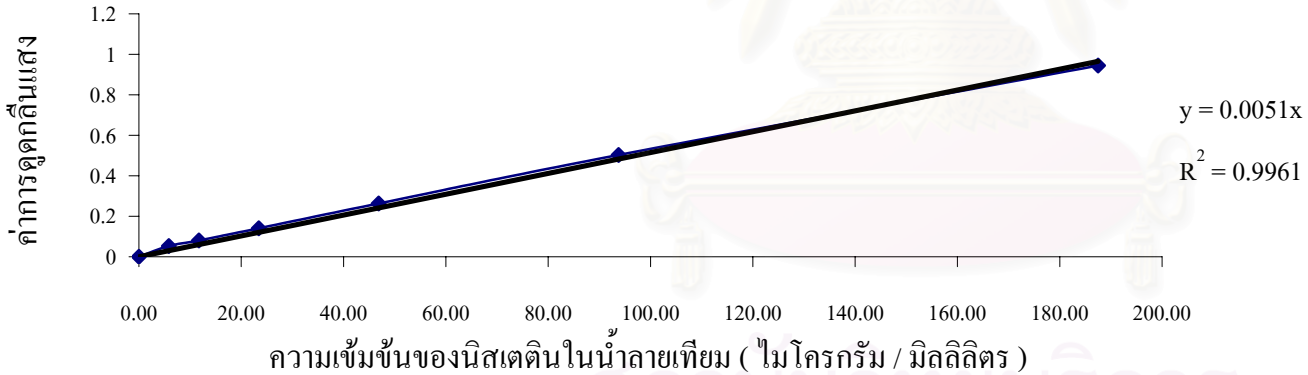
ตารางที่ 15 ผลการชั่งน้ำหนักของวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่แช่ในน้ำลายเทียมในช่วงระยะเวลา 8 วัน

เวลา	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย
	ชิ้นที่ 1	ชิ้นที่ 2	ชิ้นที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0 ชั่วโมง	904.00	903.60	903.50	903.70	0.265	0.03
1 ชั่วโมง	902.40	897.70	892.30	897.47	5.054	0.56
6 ชั่วโมง	897.40	892.10	887.80	892.43	4.809	0.54
1 วัน	882.20	881.30	877.80	880.43	2.325	0.26
2 วัน	881.80	883.20	874.90	879.97	4.443	0.50
4 วัน	880.00	880.40	873.80	878.07	3.700	0.42
6 วัน	876.40	881.40	874.20	877.33	3.690	0.42
8 วัน	875.80	875.80	869.10	873.57	3.868	0.44

สถาบันวิทยบริการ

ตารางที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียมและค่าการดูดกลืนแสง

ความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียม (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)	ครั้งที่วัด			ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	1	2	3		
187.50	0.900	0.934	1.000	0.945	0.051
93.75	0.464	0.502	0.542	0.503	0.039
46.88	0.235	0.262	0.293	0.263	0.029
23.44	0.118	0.139	0.165	0.141	0.024
11.72	0.060	0.086	0.096	0.081	0.019
5.86	0.040	0.050	0.070	0.053	0.015



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียมและค่าการดูดกลืนแสง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทำกราฟมาตรฐาน

ตัวทำละลายนิสเตตินในการทดลองนี้ เป็นน้ำลายเทียมที่ใช้ในการแช่ชิ้นงาน แต่นิสเตตินเป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำลายเทียมตามสูตรนี้ (Karatakis และคณะ, 2000) ดังนั้นก่อนนำไปวัดการดูดกลืนแสง จึงเติมเมธานอลในปริมาตร 11 เท่า ของปริมาตรน้ำลายเทียมที่ใช้ เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายนิสเตติน

<u>หลักการ</u>

1. เตรียมนิสเตตินปริมาณ 1 มิลลิกรัม ใส่ในน้ำลายเทียม 1/12 มิลลิลิตร ได้เป็นสารแขวนตะกอนของนิสเตตินในน้ำลายเทียม 12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
2. เติมเมธานอล 11/12 มิลลิกรัม ลงในสารแขวนตะกอนดังกล่าว กวนให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลืองใส ดังนั้นได้เป็น*สารละลายของนิสเตตินในน้ำลายเทียม 12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร*
3. ทำการเจือจางตามลำดับ และวัดการดูดกลืนแสง
4. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของนิสเตตินในน้ำลายเทียม

<u>หมายเหตุ</u>

สำหรับการวัดการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ให้ทำการเติมเมธานอลอีก 11 เท่าของปริมาตรของตัวอย่างเช่นเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ

1. <u>การทดสอบการแจกแจงของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ</u>

ทดสอบด้วยการทดสอบแบบโคลโมโกรอฟ-สไมร์นอฟ (Kolmogorov-Smirnov) ค่านัยสำคัญที่กำหนด คือ 0.050 สมมติฐานของการทดสอบ คือ

H_o : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม มีการแจกแจงเป็นปกติ

H_1 : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ไม่ได้มีการแจกแจงเป็นปกติ และ

H_o : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม มีการแจกแจงเป็นปกติ

H_1 : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม ไม่ได้มีการแจกแจงเป็นปกติ

ถ้ามีผลการแจกแจงข้อมูลเป็นปกติ จึงทำการทดสอบในข้อ 2 ต่อไป

2. <u>การทดสอบความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ</u>

ทดสอบด้วยการทดสอบแบบลีวีน (Levene) ค่านัยสำคัญที่กำหนด คือ 0.050 สมมติฐานของการทดสอบ คือ

H_o : ค่าแปรปรวนของความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม เท่ากับค่าแปรปรวนของความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

H_1 : ค่าแปรปรวนของความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ไม่เท่ากับค่าแปรปรวนของความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

ผลความแปรปรวนของข้อมูล 2 กลุ่มอาจเท่ากันหรือไม่เท่ากัน แล้วทำการทดสอบข้อ 3 ต่อไป

3. <u>การทดสอบผลต่างของค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ</u>

ทดสอบด้วยการทดสอบแบบที ค่านัยสำคัญที่กำหนด คือ 0.050 สมมติฐานของการทดสอบ คือ

<u>การทดสอบ 2 ด้าน</u>

H_o : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม เท่ากับวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

H_1 : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ต่างกับวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

<u>การทดสอบด้านเดียว</u>

H_o : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมไม่มากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

H_1 : ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมมากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม

<u>เงื่อนไขของการทดสอบด้านเดียว</u> เข้าเขตปฏิเสธสมมติฐาน H_o เมื่อ

1. ค่านัยสำคัญ (2ด้าน) / 2 < ค่านัยสำคัญที่กำหนด และ
2. $t > 0$

เงื่อนไขทั้งสองข้อต้องเป็นจริงจึงจะสามารถปฏิเสธ H_o ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์ทางสถิติของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต

<u>การทดสอบสมมติฐานผลต่างระหว่างร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตตินสองปริมาณ</u>

ทดสอบด้วยการทดสอบแบบแมน-วิทนีย์ ค่านัยสำคัญที่กำหนดคือ 0.050 สมมติฐานของการทดสอบ คือ

H_0 : ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ไม่แตกต่างกัน

H_1 : ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม แตกต่างกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางและผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ

ตารางที่ 17 การทดสอบการแจกแจงของความเข้มข้นของนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วยการทดสอบแบบโคลโมโกรอฟ-สไมร์นอฟ

เวลา	ปริมาณที่ผสม	Kolmogorov-Smirnov[a]		
		Statistic	df	Sig.
1 ชั่วโมง	11 มิลลิกรัม	0.232	5	0.200*
	23 มิลลิกรัม	0.249	5	0.200*
6 ชั่วโมง	11 มิลลิกรัม	0.228	5	0.200*
	23 มิลลิกรัม	0.290	5	0.198
1 วัน	11 มิลลิกรัม	0.234	5	0.200*
	23 มิลลิกรัม	0.287	5	0.200*
2 วัน	11 มิลลิกรัม	0.333	5	0.074
	23 มิลลิกรัม	0.235	5	0.200*
4 วัน	11 มิลลิกรัม	0.194	5	0.200*
	23 มิลลิกรัม	0.201	5	0.200*
6 วัน	11 มิลลิกรัม	0.306	5	0.141
	23 มิลลิกรัม	0.165	5	0.200*
8 วัน	11 มิลลิกรัม	0.285	5	0.200*
	23 มิลลิกรัม	0.215	5	0.200*

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

<u>ผลการวิเคราะห์การแจกแจงของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ</u>

ค่านัยสำคัญของการทดสอบของนิสเตตินทั้งสองปริมาณ มากกว่า 0.050 ซึ่งเป็นระดับนัยสำคัญที่กำหนด ทุกช่วงระยะเวลา จึงยอมรับ H_o นั่นคือ ความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัม มีการแจกแจงปกติทุกช่วงระยะเวลา

ตารางที่18 การทดสอบความแปรปรวนและทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัม และ 23 มิลลิกรัมที่ปลดปล่อยจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วยการทดสอบแบบลีวีนและที ตามลำดับ

		Levene Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
1 ชั่วโมง	Equal variances assumed	4.929	0.057	-5.239	8	0.001	-6.47040	1.23513	-9.31860	-3.62220
	Equal variances not assumed			-5.239	4.544	0.004	-6.47040	1.23513	-9.74363	-3.19717
6 ชั่วโมง	Equal variances assumed	7.901	0.023	-7.533	8	0.000	-26.39240	3.50350	-34.47148	-18.31332
	Equal variances not assumed			-7.533	5.576	0.000	-26.39240	3.50350	-35.12578	-17.65902
1 วัน	Equal variances assumed	1.677	0.231	-8.626	8	0.000	-38.31140	4.44186	-48.55694	-28.07106
	Equal variances not assumed			-8.626	6.642	0.000	-38.31140	4.44186	-48.93320	-27.69480

		Levene Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
2 วัน	Equal variances assumed	2.798	0.133	-9.784	8	0.000	-40.66660	4.15654	-50.25160	-31.08160
	Equal variances not assumed			-9.784	5.027	0.000	-40.66660	4.15654	-51.33396	-29.99924
4 วัน	Equal variances assumed	6.774	0.301	-8.169	8	0.000	-47.88200	5.86156	-61.39877	-34.36523
	Equal variances not assumed			-8.169	4.998	0.000	-47.88200	5.86156	-62.95166	-32.81234
6 วัน	Equal variances assumed	1.637	0.237	-8.310	8	0.000	-57.37260	6.90373	-73.29264	-41.45256
	Equal variances not assumed			-8.310	6.141	0.000	-57.37260	6.90373	-74.17203	-40.57317
8 วัน	Equal variances assumed	0.988	0.349	-10.566	8	0.000	-58.11800	5.50039	-70.80192	-45.43408
	Equal variances not assumed			-10.566	7.445	0.000	-58.11800	5.50039	-70.96830	-45.26770

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ

ค่านัยสำคัญของการทดสอบลีวีน (Levene Test) ถ้ามากกว่า 0.050 ซึ่งเป็นค่านัยสำคัญที่กำหนด จึงยอมรับ H_o นั่นคือ ความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม เท่ากับความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม ให้ดูในช่อง equal variance assumed ถ้าน้อยกว่า 0.050 ซึ่งเป็นค่านัยสำคัญที่กำหนด จึงปฏิเสธ H_o นั่นคือ ความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ไม่เท่ากับความแปรปรวนของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัมให้ดูในช่อง equal variance not assumed

ผลการวิเคราะห์ของการทดสอบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุ

การทดสอบ 2 ด้าน

ค่านัยสำคัญทุกช่วงระยะเวลาน้อยกว่า 0.050 จึงปฏิเสธ H_o นั่นคือความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมต่างกับวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัมทุกช่วงระยะเวลา

การทดสอบด้านเดียว

ค่านัยสำคัญ (2ด้าน) / 2 น้อยกว่า 0.050 ทุกช่วงระยะเวลา และ $t < 0$ ดังนั้นจึงยอมรับ H_o นั่นคือความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมไม่มากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม ทุกช่วงระยะเวลา

สรุป ความเข้มข้นเฉลี่ยของนิสเตตินที่ปลดปล่อยจากวัสดุที่ผสมนิสเตติน 23 มิลลิกรัม มากกว่าวัสดุที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัม ทุกช่วงระยะเวลา

ตารางและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ย และผลรวมของลำดับที่ของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ

เวลา	ปริมาณที่ผสม	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 ชั่วโมง	11 มิลลิกรัม	5	8.00	40.00
1 ชั่วโมง	23 มิลลิกรัม	5	3.00	15.00
6 ชั่วโมง	11 มิลลิกรัม	5	6.50	32.50
	23 มิลลิกรัม	5	4.50	22.50
1 วัน	11 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
	23 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
2 วัน	11 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
	23 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
4 วัน	11 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
	23 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
6 วัน	11 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
	23 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
8 วัน	11 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50
	23 มิลลิกรัม	5	5.50	27.50

ตารางที่ 20 การทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบค่ากลางของร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตของการผสมนิสเตตินปริมาณ 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัมในวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อ ด้วยการทดสอบแบบแมน-วิทนีย์

		ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต
1 ชั่วโมง	Mann-Whitney U	0.000
	Wilcoxon W	15.000
	Z	-2.694
	Asymp. Sig. (2-tailed)	0.007
6 ชั่วโมง	Mann-Whitney U	7.500
	Wilcoxon W	22.500
	Z	-1.491
	Asymp. Sig. (2-tailed)	0.136
1 วัน	Mann-Whitney U	12.500
	Wilcoxon W	27.500
	Z	0.000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000

		ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิต
2 วัน	Mann-Whitney U	12.500
	Wilcoxon W	27.500
	Z	0.000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
4 วัน	Mann-Whitney U	12.500
	Wilcoxon W	27.500
	Z	0.000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
6 วัน	Mann-Whitney U	12.500
	Wilcoxon W	27.500
	Z	0.000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
8 วัน	Mann-Whitney U	12.500
	Wilcoxon W	27.500
	Z	0.000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000

ผลการวิเคราะห์

ค่า Asympatatic Signifiance ของการทดสอบ 2 ด้าน ได้ค่านัยสำคัญซึ่งน้อยกว่า 0.050 ใน 1 และ 6 ชั่วโมงจึงปฏิเสธ H_o นั่นคือ ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม มีความแตกต่างกัน แต่หลังจาก 6 ชั่วโมงได้ค่านัยสำคัญซึ่งมากกว่า 0.050 จึงยอมรับ H_oนั่นคือ ร้อยละของเชื้อที่รอดชีวิตจากวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อที่ผสมนิสเตติน 11 มิลลิกรัมและ 23 มิลลิกรัม ไม่มีความแตกต่างกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว นวภรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์ เกิดวันที่ 5 มกราคม พ.ศ. 2519 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีทันตแพทยศาสตร์บัณฑิต ในปี พ.ศ. 2542 จากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากนั้นเข้ารับราชการเป็นอาจารย์ระดับ 4 ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ต่อมาในปี พ.ศ. 2544 ได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ ที่คณะทันตแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย