บทที่ 5

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ของ

จากการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์คือสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 เป็นเวลา 3 วัน และบันทึกผลการทดลองโดยการนับจำนวนเซลล์ปรสิตที่ยังมีชีวิตอยู่ทุกระยะ 12 ชั่วโมงคือ ที่ 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่า T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ มีการเพิ่มจำนวนสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง และจะลดลงเท่ากันทุกสายพันธุ์ แต่อัตราการเพิ่มจำนวนจะแตกต่างกันไปคือ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 มีจำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงเป็น 160×10^4 , 115×10^4 และ 89×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ที่ 18 เพิ่มจำนวนได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่ 23 และ 29 เป็น 26 %และ 45 %ตามลำดับ และในชั่วโมงที่ 60 และ 72 จำนวนเซลล์ของ T. vaginalis จะลดลง ดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟที่ 1

2. ผลการทดสอบความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซลของ T. vaginalis ก่อนการชักนำ

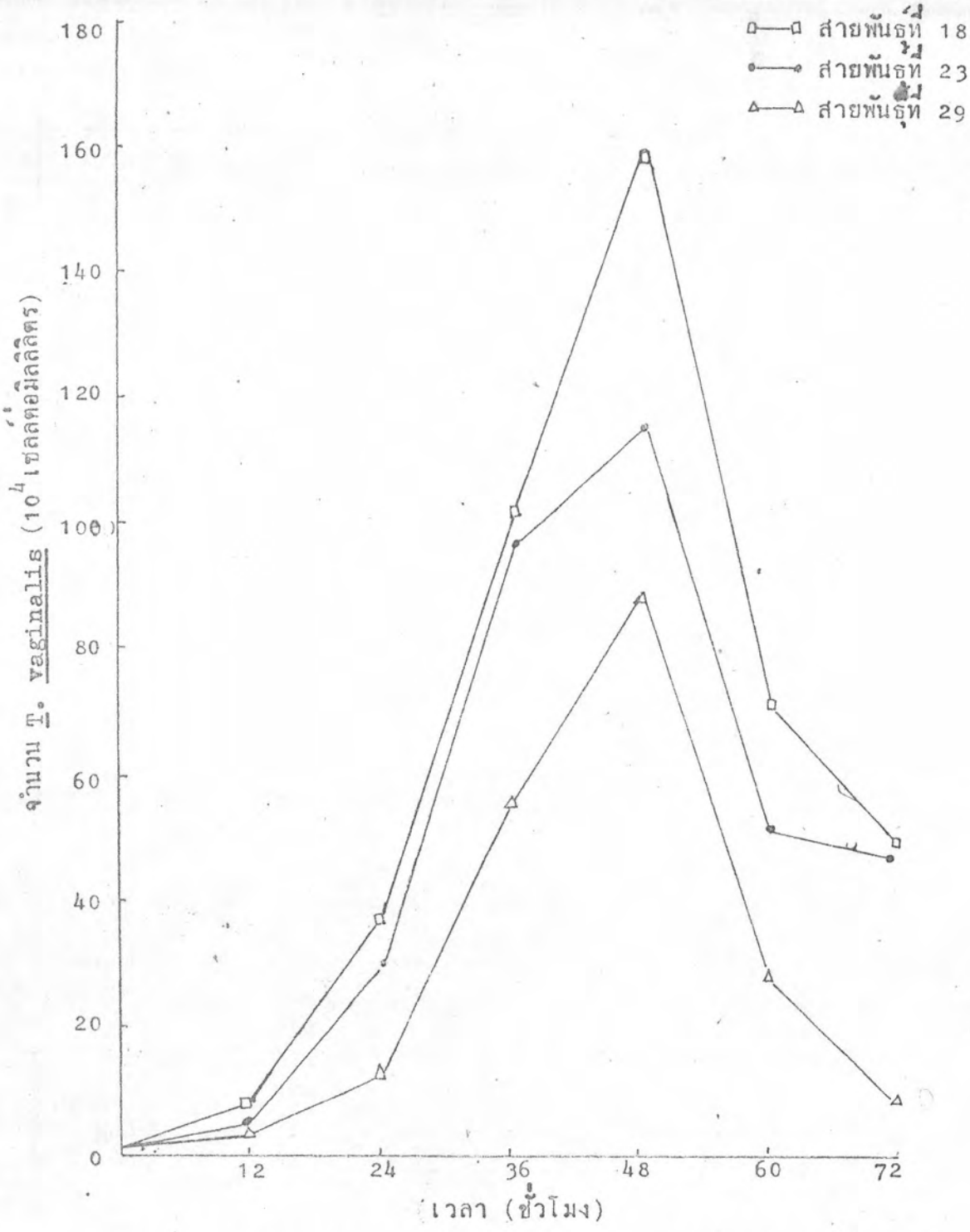
ก่อนที่จะทำการชักนำเพื่อให้ T. vaginalis มีการดื้อต่อยานั้น ได้ศึกษาความไวต่อยาทั้งสองชนิดของ T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ เพื่อที่จะได้ทราบถึงความเข้มข้นของยาแต่ละชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis ได้ โดยนำมาทดสอบกับสารละลายยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล ที่ได้กำหนดความเข้มข้นของยาต่างกัน 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรดังนี้คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5 และ 10.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และศึกษาใน T. vaginalis ภายหลังจากที่ให้เชื้อ T. vaginalis ได้สัมผัสกับยาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายาเมโทรไนดาโซลที่ความเข้มข้น 2.0, 2.5 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 เริ่มการทดลองที่ 1 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรที่เวลา 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง

สายพันธุ์ \ เวลา (ชั่วโมง)	จำนวน T. vaginalis (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)						
	0	12	24	36	48	60	72
สายพันธุ์ที่ 18	1.0	7.7	37.0	102.1	160.0	71.0	48.0
สายพันธุ์ที่ 23	1.0	5.0	29.1	96.4	115.0	51.5	47.0
สายพันธุ์ที่ 29	1.0	3.9	12.5	56.4	89.0	17.4	8.0

ตารางที่ 3 แสดงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซล ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ 48 ชั่วโมง

สายพันธุ์	ความเข้มข้นของยา (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	เมโทรไนดาโซล	ทินิดาโซล
สายพันธุ์ที่ 18	2.0	1.5
สายพันธุ์ที่ 23	2.5	1.5
สายพันธุ์ที่ 29	2.0	1.5



กราฟที่ 1 แสดงอัตราการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุก ๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ตามลำดับ ส่วนยาทินิดาโซล ที่ความเข้มข้นของยา 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis ได้ทั้งสามสายพันธุ์ จึงได้นำผลการทดลองอ้างต้นนี้ มาเป็นแนวทางในการกำหนดความเข้มข้นขนาดฮับสีทัล โดยพิจารณาจากความเข้มข้นของยาทั้งสองชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis ต่อจำนวนเชื้อ จะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นต่ำสุดเป็น 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นความเข้มข้นของยาขนาดฮับสีทัลที่ต่ำที่สุดควรจะเป็น 0.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอีก 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจำนวน T. vaginalis 50×10^4 เซลล์ แต่เนื่องจากในการทดลองแต่ละการทดลองจะใช้จำนวนเชื้อ T. vaginalis ที่จุดเริ่มต้นเป็น 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นความเข้มข้นของยาที่ใช้จึงเป็น 0.015 และ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. ผลการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis

3.1 ยาเมโทรไนดาโซล

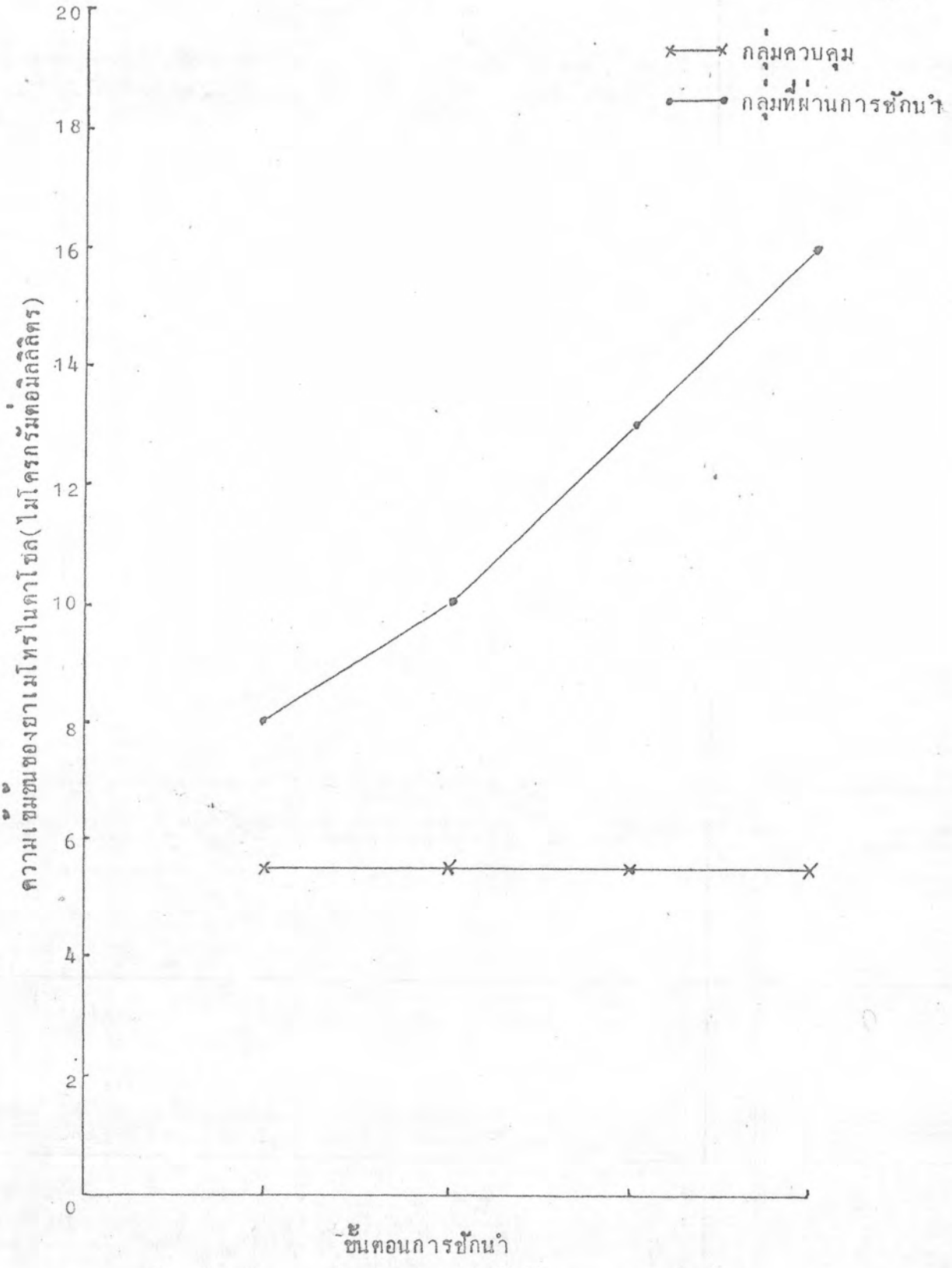
3.1.1 ผลการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาภายหลังจากการชักนำให้เกิดการดื้อยา

เมื่อนำ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 มาทำการชักนำให้เกิดการดื้อยา โดยให้ T. vaginalis แต่ละสายพันธุ์ ได้สัมผัสกับยาที่ระดับความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นระยะเวลา 20 วัน แล้วนำมาทดสอบความไวต่อยาที่ระดับความเข้มข้นของยาที่มีความแตกต่างกัน 0.5 ไมโครกรัม โดยเริ่มจากความเข้มข้นที่ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรถึง 25.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รวม 40 ระดับความเข้มข้น ดังนี้คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0,14.5, 15.0, 15.5, 16.0, 16.5, 17.0, 17.5, 18.0, 18.5, 19.0, 19.5 และ 20.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เคยได้สัมผัสกับยาเลยดูผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4 กราฟที่ 2, 3 และ 4 พบว่าสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในกลุ่มควบคุมมีความไวต่อยา

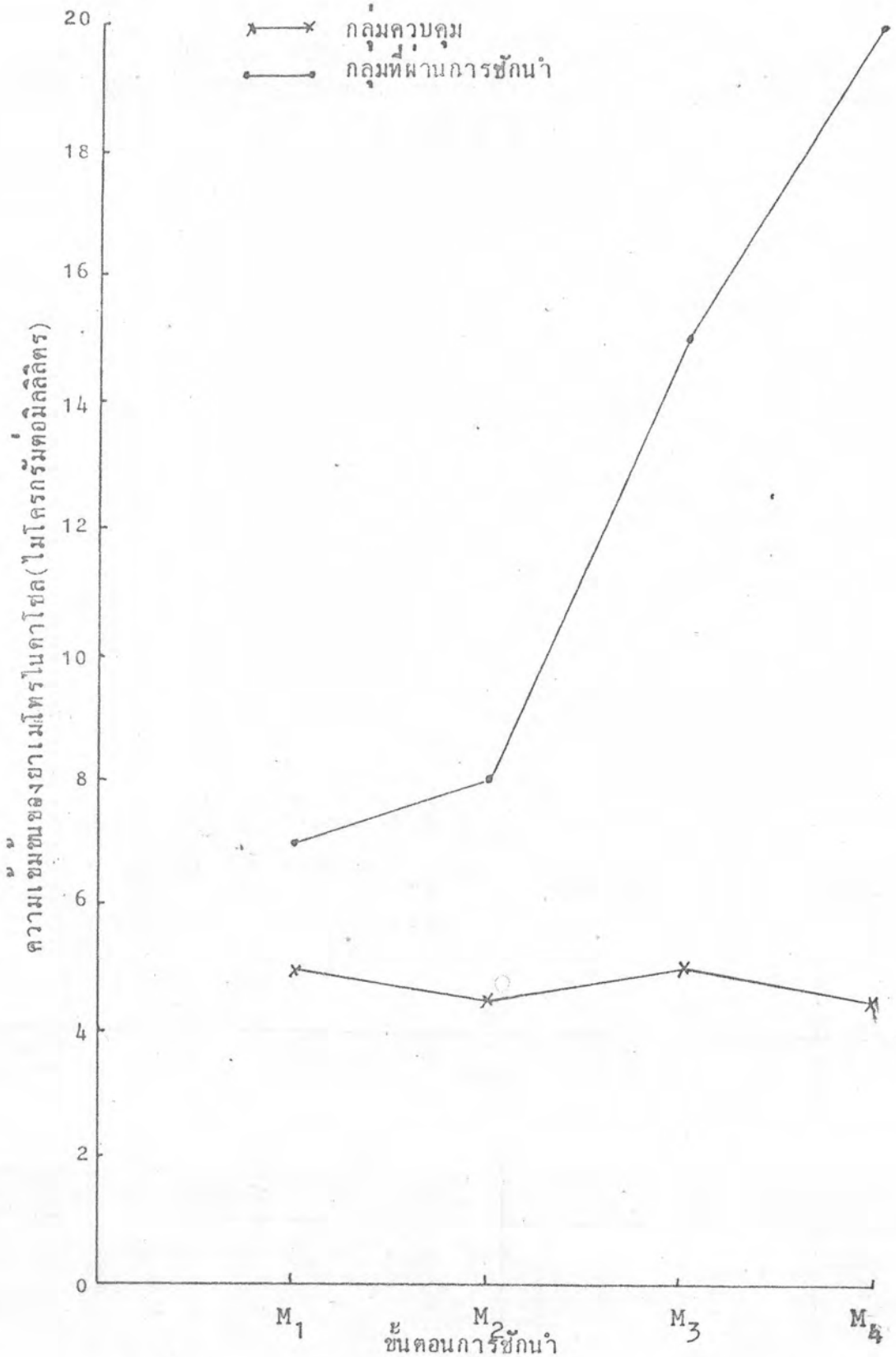
ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ **T. vaginalis** สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังจากที่ผ่านการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซล เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การทดลอง / สายพันธุ์	ความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซล (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)							
	C_1	M_1	C_2	M_2	C_3	M_3	C_4	M_4
สายพันธุ์ที่ 18	5.5	8.0	5.5	10.0	5.5	13.0	5.5	16.0
สายพันธุ์ที่ 23	5.0	7.0	4.5	8.0	5.0	15.0	4.5	20.0
สายพันธุ์ที่ 29	6.0	8.5	6.0	11.5	5.5	13.0	5.5	15.5

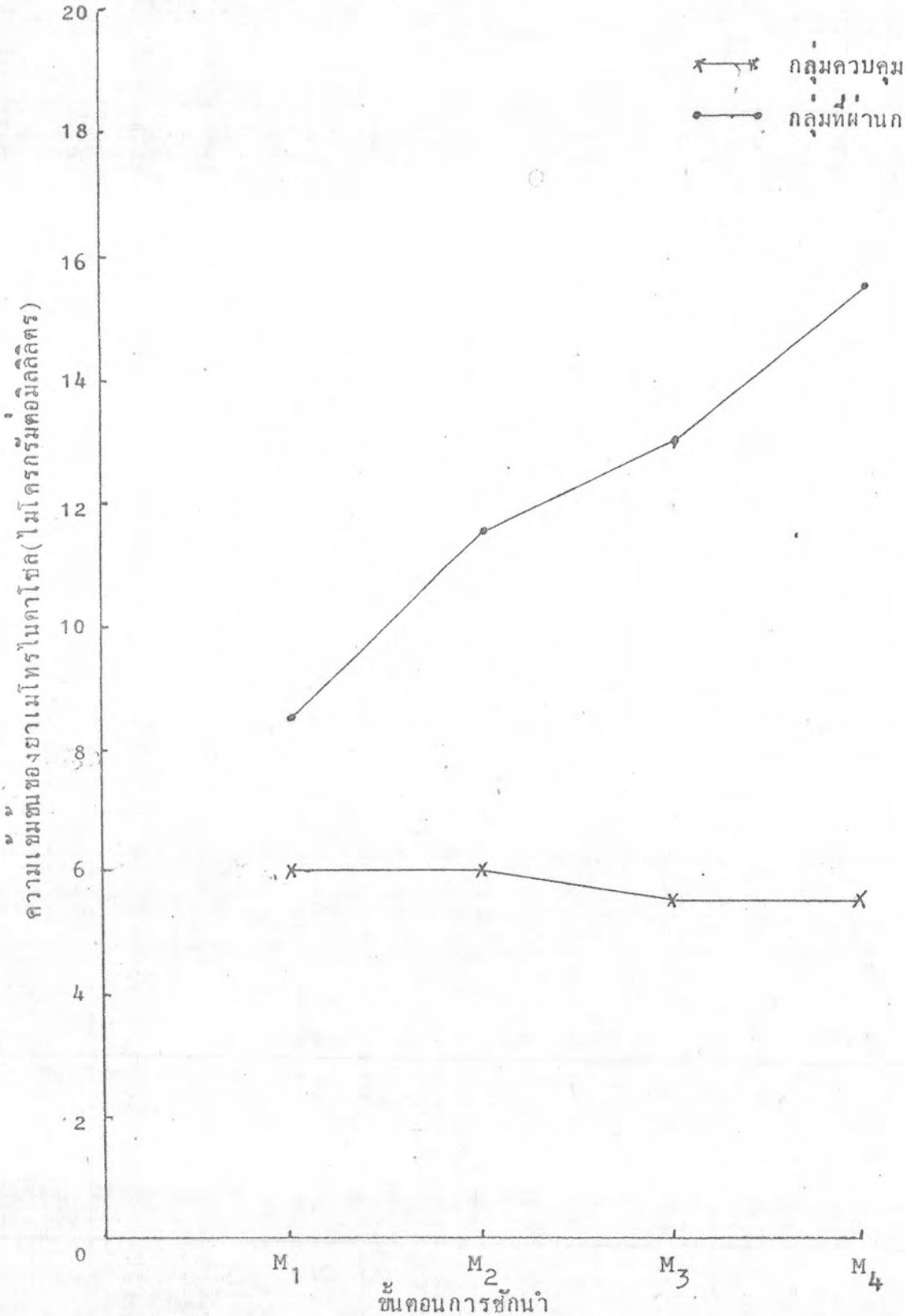
1713007A



กราฟที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซล ในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลในการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ที่ผ่านการชักนำแล้ว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ที่ระดับความเข้มข้น 5.5, 4.5 และ 6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ผ่านการชักนำจะมีความไวต่อยาที่ระดับความเข้มข้น 8.0, 7.0 และ 8.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่า T. vaginalis ในกลุ่มที่ผ่านการชักนำจะมีความไวต่อยาลดลง โดยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สายพันธุ์ที่ 18 และ 29 มีความไวต่อยาลดลง 1.4 เท่า และสายพันธุ์ที่ 23 มีความไวต่อยาลดลง 1.5 เท่า แต่ถ้าใช้เวลาในการชักนำเพิ่มขึ้นเป็น 30 วัน ความไวต่อยาของสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 จะเป็น 10.0, 8.0 และ 11.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 5.5, 4.5 และ 6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 1.8, 1.7 และ 1.9 เท่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาในการชักนำเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 20 วัน จะเห็นความแตกต่างในความไวต่อยาของ T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ได้ชัดเจนขึ้น โดยที่สายพันธุ์ที่ 18 และ 29 มีความไวต่อยาเป็น 13.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีความไวต่อยาเป็น 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองสายพันธุ์ ก็จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 2.3 เท่าทั้งสองสายพันธุ์เช่นกัน ในขณะที่สายพันธุ์ที่ 23 ที่ผ่านการชักนำจะมีความไวต่อยาเป็น 15.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงมีความไวต่อยาลดลง 3.0 เท่าของกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาที่ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเพิ่มระยะการชักนำเป็น 30 วัน ความไวต่อยาของสายพันธุ์ที่ 18 และ 29 จะเป็น 16.0 และ 15.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีความไวต่อยาเป็น 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองสายพันธุ์ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 2.9 และ 2.8 เท่า ส่วนสายพันธุ์ที่ 23 ความไวต่อยาจะลดลง 4.4 เท่าของกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไว 4.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยจะถูกยับยั้งการเจริญที่ 20.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.1.2 การวิเคราะห์สถิติโดยใช้การทดสอบแบบ T

การทดสอบผลของยาเมโทรไนดาโซล จะมีอิทธิพลในการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ ทำได้โดย

การทดสอบสมมุติฐาน

1. Ho:ยาเมโทรไนดาโซลไม่มีผลในการชักนำให้เกิดการดื้อยา คือ

$$: \mu_1 - \mu_2 = 0 \quad , \quad \mu_d = 0$$

2. H_A :ยาเมโทรไนดาโซลมีผลในการชักนำให้เกิดการดื้อยา คือ

$: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

3. $\alpha = 0.05$

4. พื้นที่วิกฤตอยู่ภายใต้โค้ง T ด้วย df= (n-1) = 3 คือ 2.35

5. คำนวณค่า $T = \frac{\bar{d} - \mu_d}{s_{\bar{d}}}$

สายพันธุ์ที่ 18

การทดลอง	ข้อมูลดิบ กลุ่มควบคุม	กลุ่มชักนำ	การคำนวณ d	d - $\bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$
M_1	5.5	8.0	2.5	3.75	14.06
M_2	5.5	10.0	4.5	1.75	3.06
M_3	5.5	13.0	7.5	1.25	1.56
M_4	5.5	16.0	10.5	4.25	18.06
			$\sum d = 25$	$\sum = 0$	36.74

$\bar{d} = 25/4 = 6.25$

$V(d) = (d - \bar{d})^2/n - 1$

$= 36.74/3$

$V(\bar{d}) = V(d)/n = 36.74/(3)(4)$

$S_{\bar{d}} = \sqrt{36.74/(3)(4)} = 1.7$

แทนค่า $T = \frac{6.25 - 0}{1.7} = 3.67$

6. $3.67 > 2.35$ ตกอยู่ในเขตวิกฤต จึงปฏิเสธ Ho ด้วยความเชื่อมั่น 95% แสดงว่ายาเมโทรไนดาโซลมีผลในการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน *T. vaginalis* สายพันธุ์ที่ 18 จริง

ในทำนองเดียวกันการทดสอบสมมุติฐานในสายพันธุ์ที่ 23 และ 29 จะได้ค่าจากการคำนวณเป็น 2.49 และ 3.93 ซึ่งจะมากกว่าค่าที่ได้จากตาราง 2.35 จึงสรุปได้ว่า

ยาเมโทรไนดาโซลมีผลในการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 และ 29 ด้วย

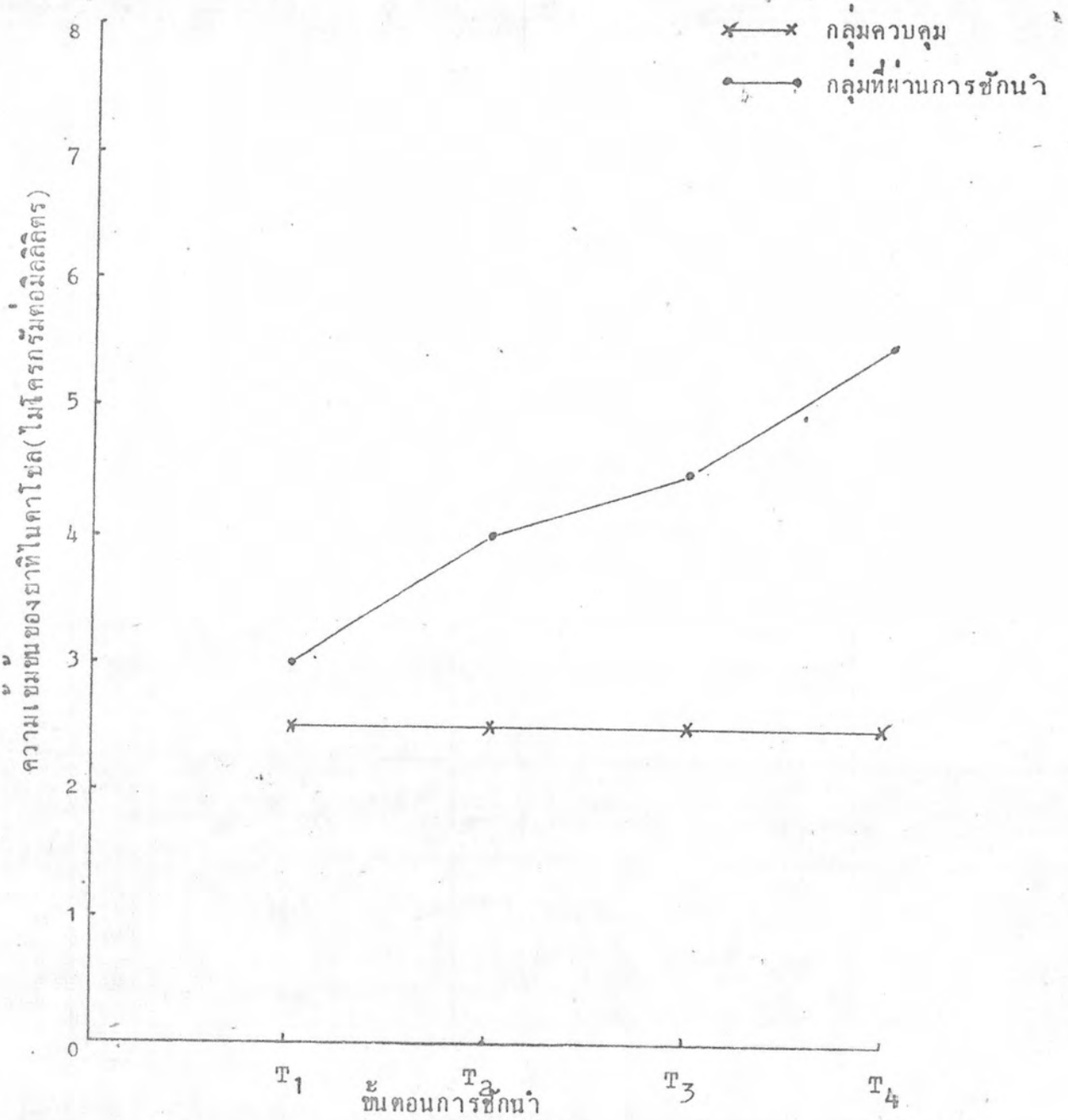
3.2 ยาทินิดาโซล

3.2.1 ผลการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาภายหลังจากการชักนำให้เกิดการดื้อยา

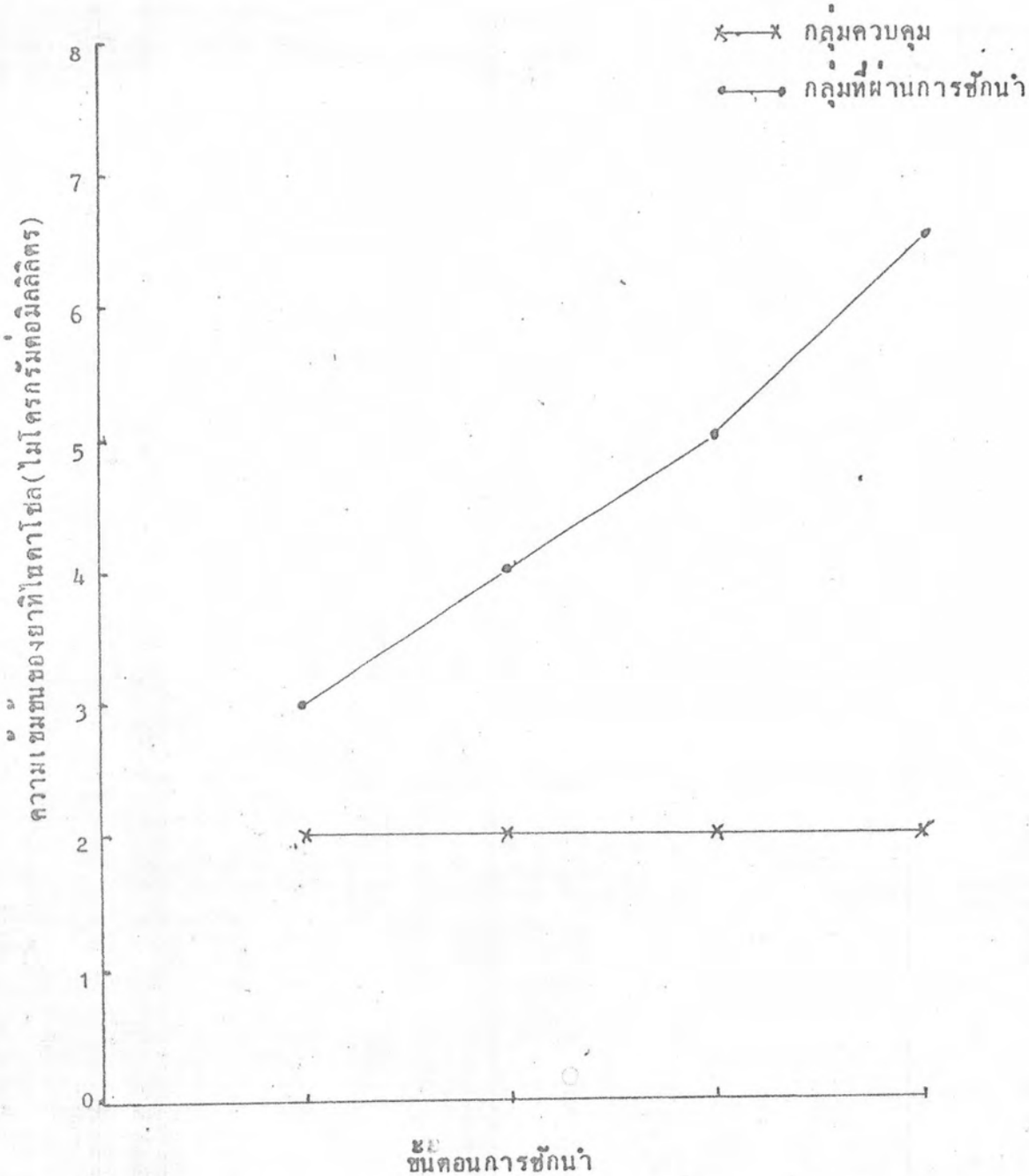
เมื่อนำ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ผ่านการชักนำให้เกิดการดื้อยาที่ระดับความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลานาน 20 วัน มาทดสอบความไวต่อยาที่ระดับความเข้มข้นที่มีความแตกต่างกัน 0.5 ไมโครกรัม โดยกำหนดความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-15.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบันทึกผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 5 กราฟที่ 5,6และ 7 พบว่า สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในกลุ่มควบคุมมีความไวต่อยาเป็น 2.5, 2.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ผ่านการชักนำจะมีความไวต่อยาที่ 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสามสายพันธุ์ ซึ่งจะมีความไวต่อยาลดลง 1.2, 1.5 และ 1.5 เท่าของกลุ่มควบคุมเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการชักนำเป็น 30 วัน พบว่าสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 จะมีความไวต่อยาเป็น 4.0, 4.0 และ 3.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 2.5, 2.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 1.6, 2.0 และ 1.7 เท่า และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาในการชักนำเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 20 วัน จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่ 18 จะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก คือมีความไวต่อยาที่ 4.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวเป็น 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความไวต่อยาจะลดลง 1 - 8 เท่า สายพันธุ์ที่ 23 และ 29 มีความไวต่อยาเป็น 5.0 และ 4.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองสายพันธุ์ ความไวต่อยาจะลดลงเป็น 2.5 และ 2.2 เท่า เมื่อเพิ่มระยะการชักนำเป็น 30 วัน สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 จะมีความไวต่อยาที่ 5.5, 6.5 และ 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาที่ 2.5, 2.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 2.2, 3.2 และ 2.7 เท่า

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาทินิดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังจากที่ผ่านการชักนำให้เกิดการดื้อยาทินิดาโซล เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

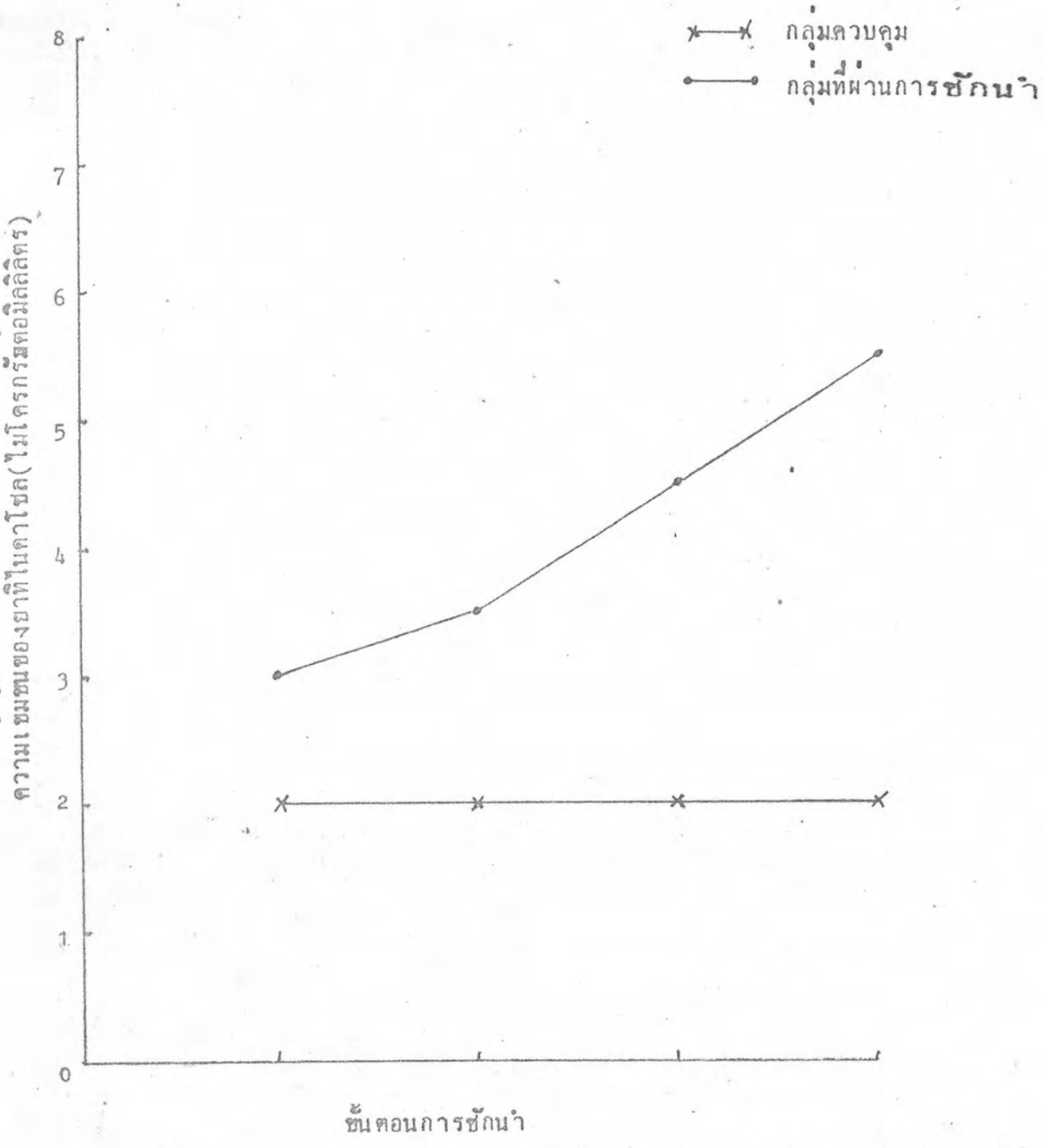
การทดลอง / สายพันธุ์	ความเข้มข้นของยาทินิดาโซล(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)							
	C_1	T_1	C_2	T_2	C_3	T_3	C_4	T_4
สายพันธุ์ที่ 18	2.5	3.0	2.5	4.0	2.5	4.5	2.5	5.5
สายพันธุ์ที่ 23	2.0	33.0	2.0	4.0	2.0	5.0	2.0	6.5
สายพันธุ์ที่ 29	2.0	3.0	2.0	3.5	2.0	4.5	2.0	5.5



กราฟที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ที่ผ่านการชักนำแล้ว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



กราฟที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.2.2 การวิเคราะห์สถิติโดยใช้การทดสอบแบบ T

การทดสอบผลของยาทินิดาโซล ในการมีอิทธิพลในการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ จะทำการทดสอบสมมุติฐานในทำนองเดียวกันกับการทดสอบสมมุติฐานในข้อ 3.1.2 โดยกำหนดให้ n= จำนวนตัวอย่าง = 4 α = 0.05 พื้นที่วิกฤตที่มี df= (n-1) = 3 คือ 2.35

จากการคำนวณจะได้ค่า T ของสายพันธุ์ที่ 18 เป็น 3.5

" T " 23 " 4.74

" T " 29 " 3.53

ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นค่า T ที่มากกว่าค่า T ที่ได้จากตาราง จึงกล่าวด้วยความเชื่อมั่น 95% ว่า ยาทินิดาโซลมีผลในการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 จริง

3.3 การบันทึกการเพิ่มจำนวน T. vaginalis

3.3.1 การบันทึกการเพิ่มจำนวน

ในระหว่างการชักนำให้เกิดการดื้อยาใน T. vaginalis ทั้งสามสายพันธุ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ คือ ในการชักนำที่ใช้ความเข้มข้นของยาทั้งสองชนิด คือ เมโทรไนดาโซลและทินิดาโซล 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 20 และ 30 วัน แล้วเพิ่มความเข้มข้นในการชักนำต่อไปเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 20 และ 30 วัน ได้บันทึกการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis ทุก ๆ 48 ชั่วโมงหรือทุก ๆ ครั้งที่มีการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ไปพร้อมกันด้วย พบว่าตลอดระยะเวลาที่มีการชักนำให้เกิดการดื้อยาแต่ละชนิด ในทุก ๆ 48 ชั่วโมง รวมทั้งในกลุ่มควบคุมด้วยจะมีจำนวนเซลล์ที่แตกต่างกัน มีการเพิ่มจำนวนในลักษณะที่ไม่สม่ำเสมอตลอดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7 กราฟที่ 8, 9 และ 10

3.3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การทดสอบแบบ T

การทดสอบผลของยาเมโทรไนดาโซลและทินิดาโซล ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ T. vaginalis ในระหว่างการชักนำ จะทำการทดสอบสมมุติฐาน

ตารางที่ 6 แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุกๆ 2 วัน ในระหว่างการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซล และยาทินิดาโซลที่มีความเข้มข้นของยาเป็น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับกลุ่มควบคุม

การทดลอง / จำนวนวัน	จำนวนเซลล์ T. vaginalis (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)								
	สายพันธุ์ที่ 18			สายพันธุ์ที่ 23			สายพันธุ์ที่ 29		
	C	M	T	C	M	T	C	M	T
2	164.7	173.5	163.7	149.6	155.8	147.5	158.0	148.0	143
4	144.2	152.5	165.7	161.7	155.0	145.2	163.4	141.2	137
6	174.2	152.2	165.2	146.7	137.3	137.7	161.4	150.0	130
8	176.2	178.8	184.8	162.6	157.2	139.7	166.5	153.5	140
10	173.2	165.0	173.2	153.1	141.0	131.5	143.0	131.5	126
12	172.5	166.7	168.0	150.7	136.0	127.0	169.0	151.5	141
14	167.8	168.9	148.2	149.7	153.0	155.1	175.7	159.2	156.5
16	184.5	178.5	181.2	146.7	146.6	138.7	123.2	121.7	120.3
18	181.5	179.0	172.2	154.2	146.57	114.2	157.5	153.2	152.5
20	188.1	174.2	164.4	153.2	136.5	132.2	172.7	164.5	159.7
22	168.6	168.6	171.6	139.5	148.5	139.0	126.7	131.6	14 5.8
24	183.9	180.0	186.5	137.0	128.5	135.0	115.8	112.8	11 9.2
26	166.7	160.0	161.4	144.0	128.0	123.5	125.6	125.8	13 7.6
28	157.2	158.0	164.2	135.0	131.0	127.5	154.8	129.3	14 9.2
30	147.7	158.0	144.5	140.0	135.0	131.5	128.2	127.5	11 4.6

หมายเหตุ C = กลุ่มควบคุม

M = การทดลองชักนำที่ใช้ยาเมโทรโนดาโซล

T = การทดลองชักนำที่ใช้ยาทินิดาโซล

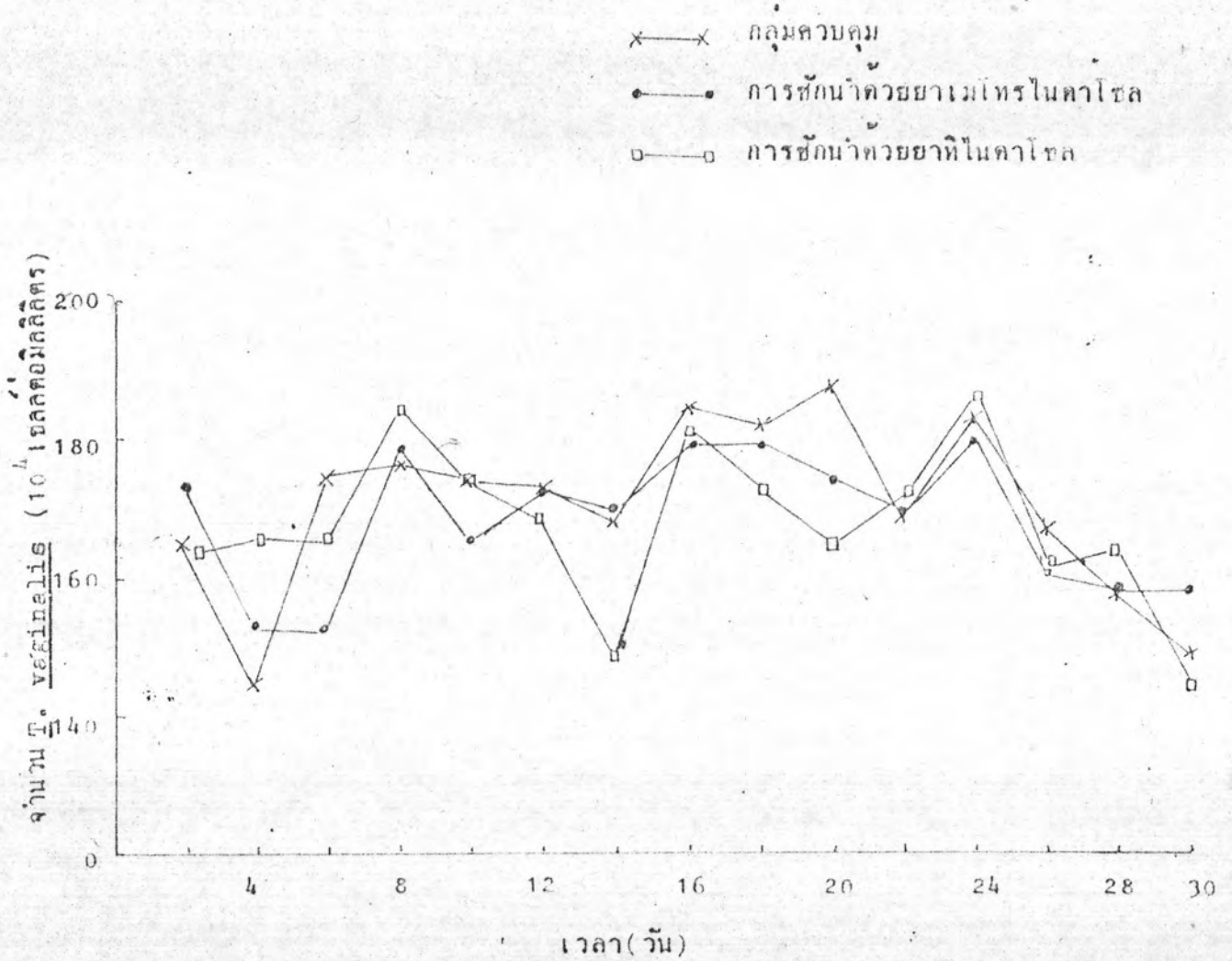
ตารางที่ 7 แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุก ๆ 2 วัน ในระหว่างการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซล และยาทินิดาโซลที่ความเข้มข้นของยาเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับกลุ่มควบคุม

จำนวนวัน / ชุดการทดลอง	จำนวนเซลล์ T. vaginalis (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)								
	สายพันธุ์ที่ 18			สายพันธุ์ที่ 23			สายพันธุ์ที่ 29		
	C	M	T	C	M	T	C	M	T
2	187.0	180.0	187.6	165.2	155.8	156.2	157.0	130.5	155.5
4	189.0	189.0	144.2	142.6	129.2	136.0	155.0	145.0	131.5
6	143.3	156.0	135.2	151.2	147.0	142.2	142.5	137.6	115.5
8	181.2	171.7	160.0	149.2	137.5	147.4	144.0	129.5	110.0
10	156.9	167.4	151.8	141.5	126.5	135.0	145.5	116.5	141.0
12	188.5	162.5	169.5	148.5	133.8	131.0	146.5	110.0	150.0
14	177.0	162.5	168.0	153.0	135.6	120.9	157.0	133.1	151.5
16	146.5	148.3	155.2	139.7	129.9	134.6	157.0	130.1	150.7
18	161.4	142.5	138.2	142.5	129.3	142.5	163.5	144.6	151.0
20	158.5	151.2	146.7	158.7	130.0	132.5	153.0	144.2	136.5
22	134.2	129.0	133.2	156.9	131.0	133.5	157.0	136.5	144.0
24	157.5	150.0	139.2	151.0	131.0	126.5	160.0	144.5	142.0
26	144.0	134.2	122.7	153.0	132.0	127.0	156.0	149.5	133.1
28	141.7	129.2	105.6	149.2	129.5	137.0	154.0	139.9	135.0
30	157.4	149.5	154.2	156.9	130.5	129.5	149.5	126.7	134.0

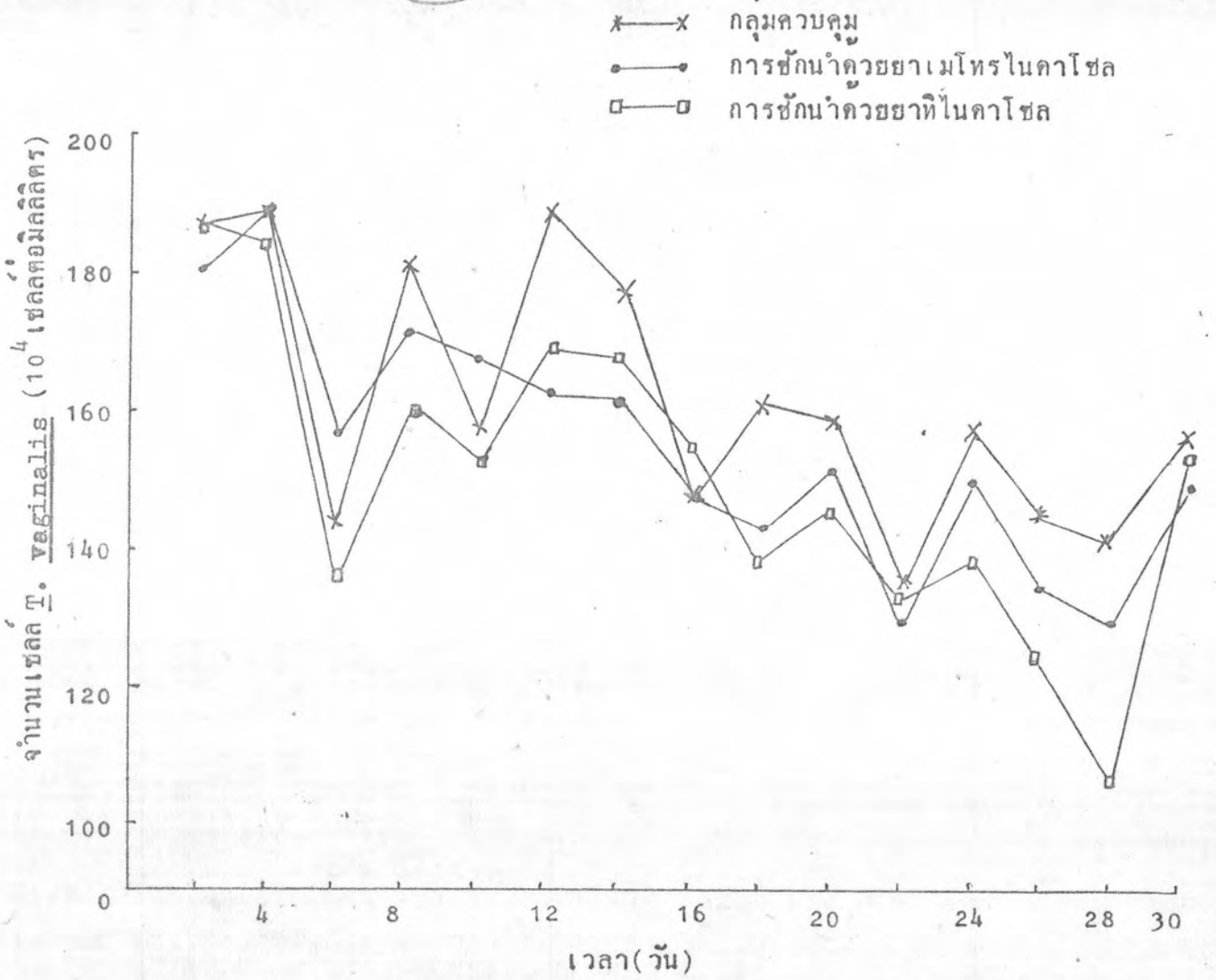
หมายเหตุ C = กลุ่มควบคุม

M = การทดลองชักนำที่ใช้ยาเมโทรไนดาโซล

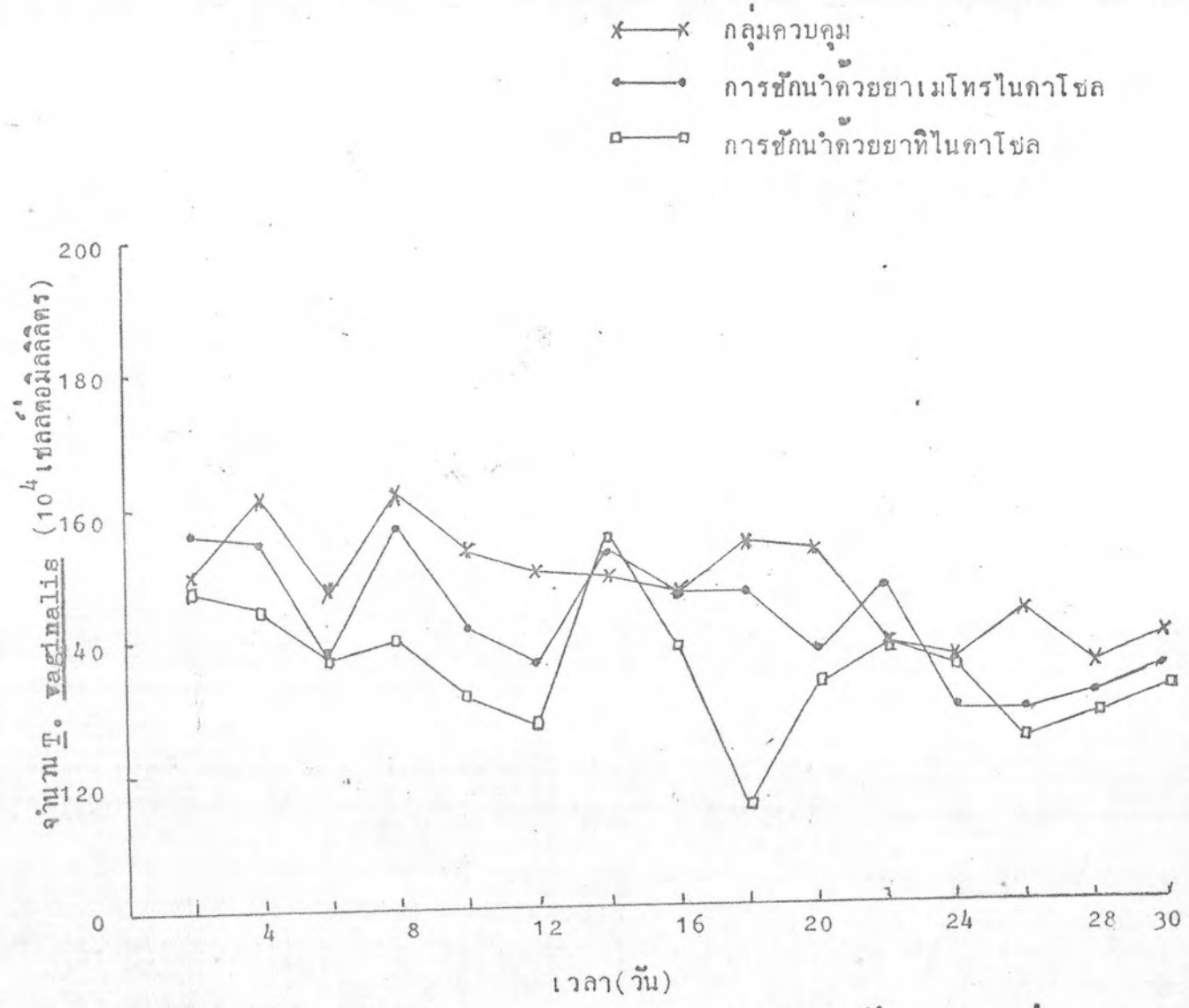
T = การทดลองชักนำที่ใช้ยาทินิดาโซล



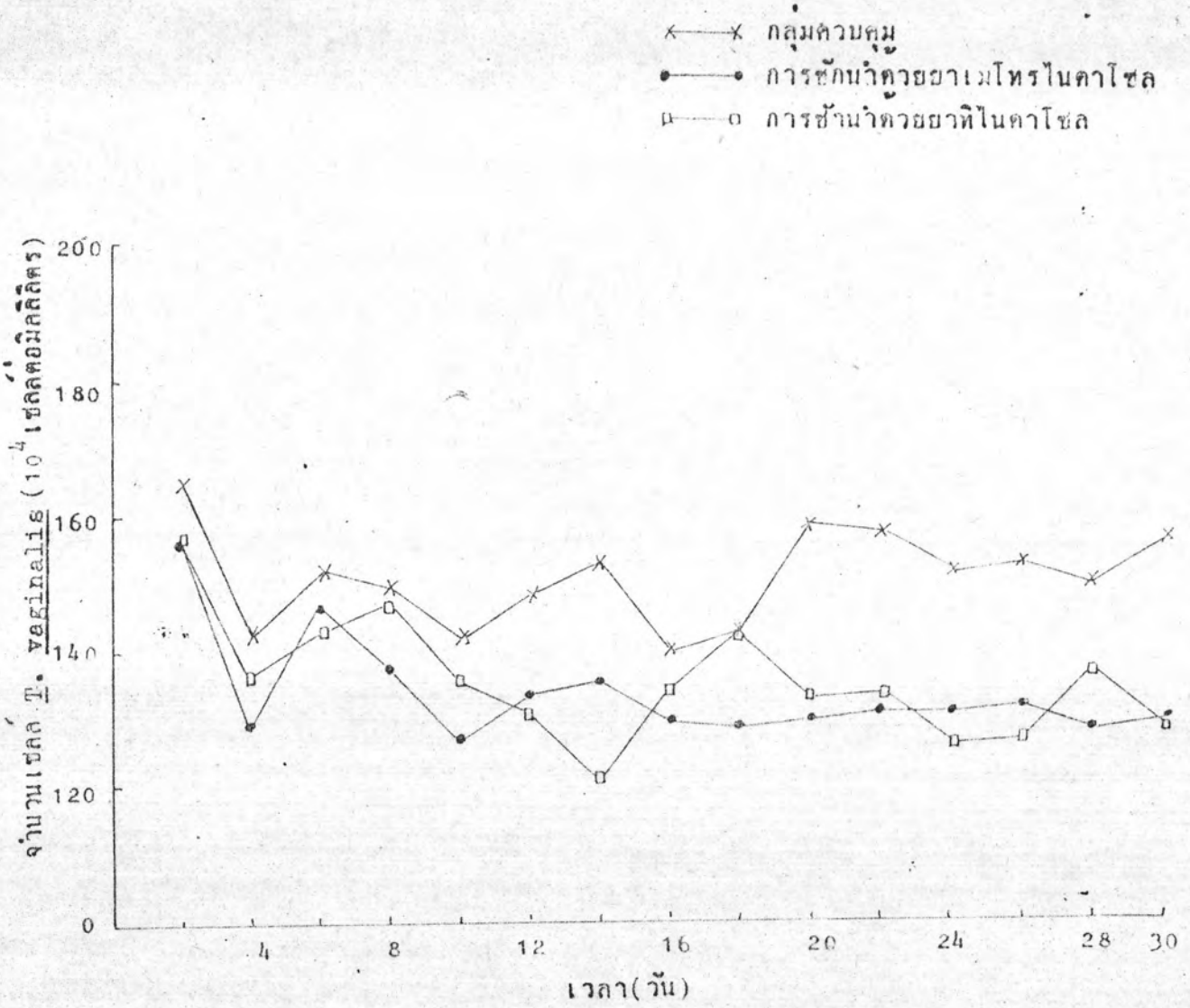
กราฟที่ 8ก แสดงการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล



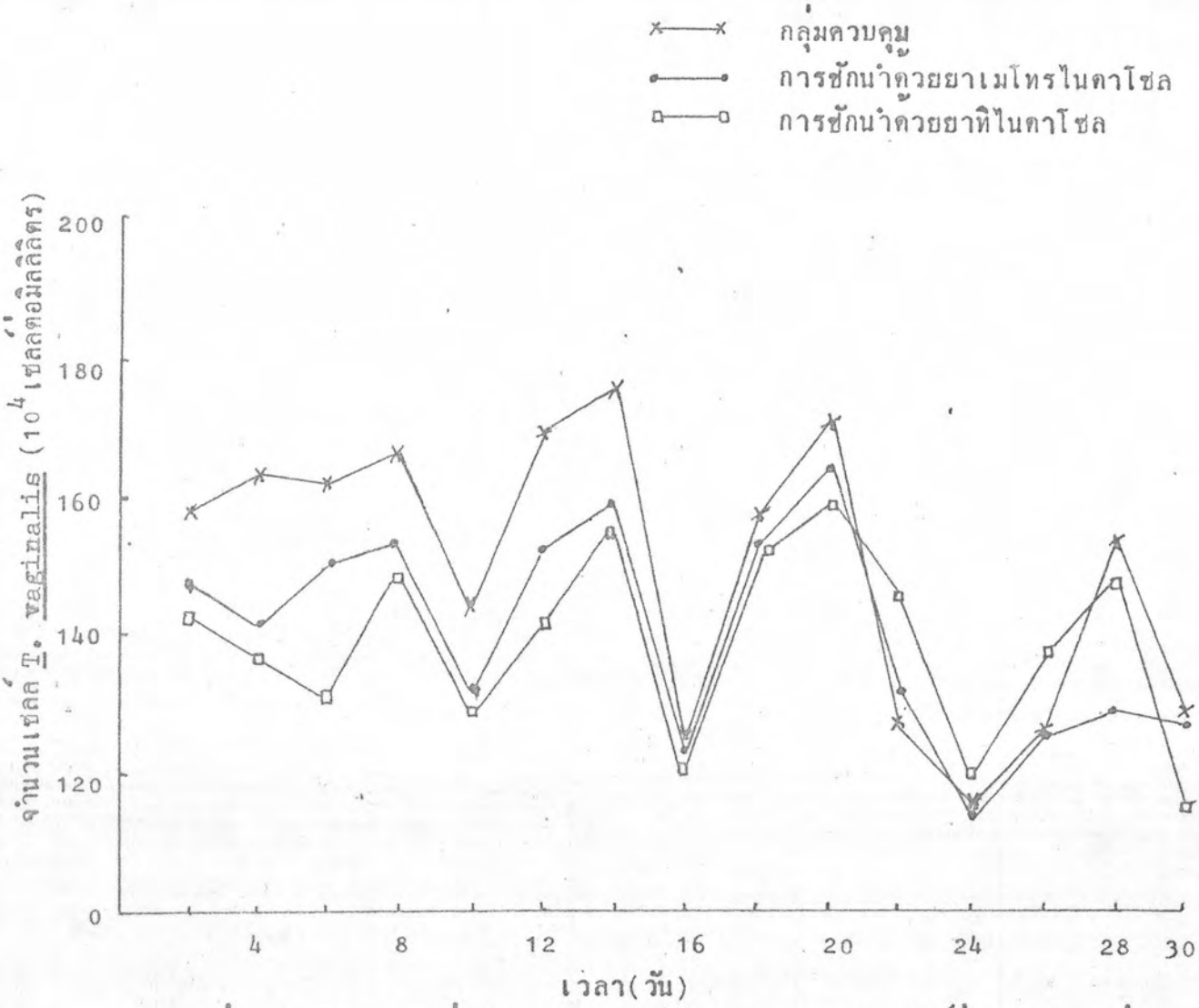
กราฟที่ 8ข แสดงการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล



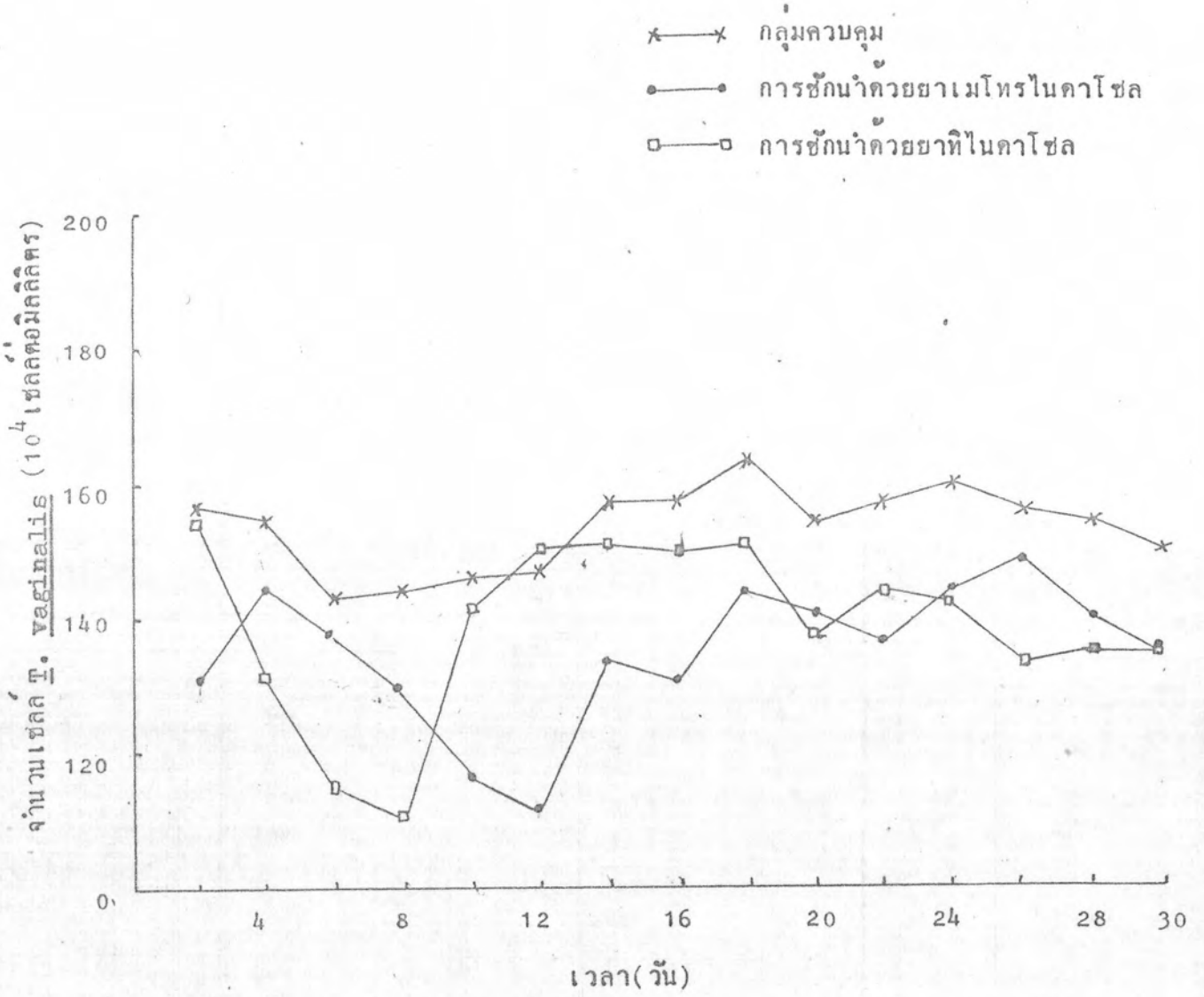
กราฟที่ 9ก แสดงการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล



กราฟที่ 9ข แสดงการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล



กราฟที่ 10ก แสดงการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล



กราฟที่ 10ข แสดงการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล

ในทำนองเดียวกันกับการทดสอบในข้อ 3.1.2 โดยกำหนดให้ n คือ จำนวนตัวอย่าง = 15 α = 0.05 พื้นที่วิกฤตที่มี df= (n-1) =14 คือ $\pm$ 1.76

3.3.2.1 ยาเมโทรไนดาโซล

ผลการทดสอบสมมุติฐานเกี่ยวกับผลของยาเมโทรไนดาโซล ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำแสดงในตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่า ค่า T ทุกค่าที่ได้จากการคำนวณ ยกเว้นค่า T ของสายพันธุ์ที่ 18 ในการชักนำที่ความเข้มข้นของยา 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะน้อยกว่า T จากตารางคือ -1.76 ซึ่งจะตกอยู่ในเขตวิกฤต จึงกล่าวด้วยความเชื่อมั่น 95% ว่า ยาเมโทรไนดาโซลจะมีผลทำให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำ จะมีความแตกต่างไปจากการเพิ่มจำนวนของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

3.3.2.2 ยาทินิดาโซล

ผลการทดสอบสมมุติฐานเกี่ยวกับผลของยาทินิดาโซล ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำแสดงในตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่าค่า T ทุกค่าที่ได้จากการคำนวณ ยกเว้นค่า T ของสายพันธุ์ที่ 18 ในการชักนำที่ความเข้มข้นของยา 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าน้อยกว่าค่า T จากตารางคือ -1.76 ซึ่งจะตกอยู่ในเขตวิกฤต จึงกล่าวด้วยความเชื่อมั่น 95% ว่า ยาทินิดาโซลจะมีผลทำให้การเพิ่มจำนวน T. vaginalis ในขณะที่มีการชักนำ มีความแตกต่างไปจากการเพิ่มจำนวนของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

4. ผลการศึกษาความคงทนของการดื้อยาใน T. vaginalis

4.1 ยาเมโทรไนดาโซล

4.1.1 ผลการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาของ T. vaginalis ภายหลังจากเลิกสัมผัสยาแล้ว 2 เดือน

จากตารางที่ 10 เมื่อนำ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ผ่านการชักนำที่ความเข้มข้นของยา 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 20 วันและ 30 วัน มาเพาะเลี้ยงใน CPLM-NA ที่ไม่มียานาน 2 เดือน มาทดสอบ

ตารางที่ 8 แสดงค่า T ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า T จากตาราง ในการทดสอบผลของยาเมโทรไนดาโซลต่อการเพิ่มจำนวน *T. vaginalis* สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำ

สายพันธุ์	ค่า T จากการคำนวณ		ค่า T จากตาราง df = 1 α = 0.05
	การชักนำที่ 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	การชักนำที่ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	
สายพันธุ์ที่ 18	-1.10	-2.57	-1.76
สายพันธุ์ที่ 23	-2.91	-2.90	-1.76
สายพันธุ์ที่ 29	-4.16	-8.01	-1.76

ตารางที่ 9 แสดงค่า T ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า T จากตาราง ในการทดสอบผลของยาทินิดาโซลต่อการเพิ่มจำนวน *T. vaginalis* สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำ

สายพันธุ์	ค่า T จากการคำนวณ		ค่า T จากตาราง df = 1 α = 0.05
	การชักนำที่ 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	การชักนำที่ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	
สายพันธุ์ที่ 18	0.06	-3.93	1.76
สายพันธุ์ที่ 23	-4.44	-5.58	-1.76
สายพันธุ์ที่ 29	-6.70	-6.07	-1.76

ความไวต่อยาที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-25.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เคยได้สัมผัสยาเลยบันทึกผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ผ่านการชักนำ 20 วัน จะมีความไวต่อยา 12.5, 15.0 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีความไวต่อยา 5.0, 5.0 และ 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 2.5, 3.0 และ 2.2 เท่า ส่วนกลุ่มที่ผ่านการชักนำ 30 วันจะมีความไวต่อยาเป็น 14.0, 18.5 และ 15.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 5.5, 5.0 และ 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 2.8, 3.7 และ 2.8 เท่า

4.1.2 การวิเคราะห์สถิติโดยการทดสอบแบบ x^2

ในการทดสอบสมมุติฐานเพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบความไวต่อยาของ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำ 20 และ 30 วัน ที่ความเข้มข้นของยา 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับความไวต่อยาของ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำในขั้นตอนดังกล่าวแล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน จะดำเนินวิธีการดังนี้

จากข้อมูลของสายพันธุ์ที่ 18

$C_3 = 5.5$, $M_3 = 13.0$

$C_3^* = 5.0$, $M_3^* = 12.5$

การทดลอง	M_3	M_3^*
ความเข้มข้นของยา	18.5	17.5

ความเข้มข้นของยาของทั้งสองการทดลองจะต่างกันหรือไม่ ถ้าใช้ $\alpha = 0.05$

ให้ π_i คือ อัตราส่วนของความเข้มข้นของยาในการทดลองที่ i ,i = 1,2

1. $H_0 : \pi_i = \frac{1}{2}$
2. $H_A : \pi_i \neq \frac{1}{2}$
3. $\alpha = 0.05$
4. พื้นที่ภายใต้โค้ง x^2 ที่มี df = (n-1) = (2-1) = 1 คือ 3.84

ตารางที่ 10 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังการชักนำที่ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของเมโทรไนดาโซล แล้วเพาะเลี้ยงต่อมา 2 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การทดลอง / สายพันธุ์	ความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซล(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	C_3^*	M_3^*	C_4^*	M_4^*
สายพันธุ์ที่ 18	5.0	12.5	5.0	14.0
สายพันธุ์ที่ 23	5.0	15.0	5.0	18.5
สายพันธุ์ที่ 29	5.5	12.5	5.5	15.5

ตารางที่ 11 แสดงค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า x^2 จากตารางในการเปรียบเทียบความไวต่อยาของการทดลอง M_3 & M_3^* และ M_4 & M_4^* ใน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29

สายพันธุ์	ค่า x^2 จากการคำนวณ		ค่า x^2 จากตาราง df = 1 α = 0.05
	การทดลอง M_3 & M_3^*	การทดลอง M_4 & M_4^*	
สายพันธุ์ที่ 18	0.05	**	3.84
สายพันธุ์ที่ 23	**	0.04	3.84
สายพันธุ์ที่ 29	0.03	**	3.84

หมายเหตุ ** ไม่มีการทดสอบสมมุติฐาน เนื่องจากความไวต่อยาของ T. vaginalis ในการทดลอง M_3 & M_3^* หรือ M_4 & M_4^* ไม่แตกต่างกัน

5. $n = 36$, $n\pi_0 = 36(\frac{1}{2}) = 18$

$$x^2 = \Sigma_i \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

$$= \frac{(|18.5-18|-0.5)^2}{18} + \frac{(|17.5-18|-0.5)^2}{18} = 0.05$$

6. $0.05 < 3.84$ อยู่นอกเขตวิกฤต จึงยอมรับ H_0 แสดงว่าความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 จากการทดลอง M_3 และ M_3^* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ในทำนองเดียวกัน การทดสอบสมมุติฐานของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ในการทดลอง M_4&M_4^* สายพันธุ์ที่ 23 และ 29 ในการทดลอง M_3&M_3^* และ M_4&M_4^* จะได้ค่า x^2 ดังแสดงในตารางที่ 11 จะเห็นได้ว่าค่า x^2ทุกค่าที่ได้จากการคำนวณ จะน้อยกว่าค่า x^2จากตารางคือ 3.84 ซึ่งจะอยู่นอกเขตวิกฤต จึงกล่าวด้วยความเชื่อมั่น 95% ว่า ภายหลังจากที่ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ผ่านการสัมผัสยานาน 20 และ 30 วัน ที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของเมโทรไนดาโซล กับกรณีที่ไดสัมผัสยาดังกล่าวแล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน ความไวต่อยาจะไม่เปลี่ยนแปลง

4.2 ยาทินิดาโซล

4.2.1 ผลการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาของ T. vaginalis ภายหลังจากเลิกสัมผัสยาแล้ว 2 เดือน

จากตารางที่ 12 เมื่อนำ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ผ่านการชักนำที่ความเข้มข้นของยา 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 20 และ 30 วัน แล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน มาทดสอบความไวต่อยาที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-15.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม บันทึกผลการทดลองที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ผ่านการชักนำ 20 วัน

ตารางที่ 12 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาทินิดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังการชักนำด้วยยาทินิดาโซล 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การทดลอง / สายพันธุ์	ความเข้มข้นของยาทินิดาโซล (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	C_3^*	T_3^*	C_4^*	T_4^*
สายพันธุ์ที่ 18	2.5	4.5	2.5	5.5
สายพันธุ์ที่ 23	2.0	5.0	2.0	6.0
สายพันธุ์ที่ 29	2.0	4.5	2.0	5.5

ตารางที่ 13 แสดงค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า x^2 จากตารางในการเปรียบเทียบความไวต่อยาของการทดลอง T_3 & T_3^* และ T_4 & T_4^* ใน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29

สายพันธุ์	ค่า x^2 จากการคำนวณ		ค่า x^2 จากตาราง df= 1 α = 0.05
	การทดลอง T_3 & T_3^*	การทดลอง T_4 & T_4^*	
สายพันธุ์ที่ 18	**	**	3.84
สายพันธุ์ที่ 23	0.07	**	3.84
สายพันธุ์ที่ 29	**	**	3.84

หมายเหตุ ** ไม่มีการทดสอบสมมุติฐาน เนื่องจากค่าความไวต่อยาของ T. vaginalis ในการทดลอง T_3 & T_3^* หรือ T_4 & T_4^* ไม่แตกต่างกัน

จะมีความไวต่อยาที่ 4.5, 5.0 และ 4.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 2.5, 2.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จะมีความไวต่อยาลดลงเป็น 1.8, 2.5 และ 2.2 เท่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการชักนำเป็น 30 วันแล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน จะมีความไวต่อยาเป็น 5.5, 6.0 และ 5.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความไวต่อยาเป็น 2.5, 2.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีความไวต่อยาลดลง 2.2, 3.0 และ 2.7 เท่า

4.2.2 การวิเคราะห์สถิติโดยการทดสอบแบบ x^2

ในการทดสอบสมมุติฐานเพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบความไวต่อยาของ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำ 20 และ 30 วัน ที่ความเข้มข้นของยาทินิดาโซล 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับความไวต่อยาของ T. vaginalis ที่ผ่านการชักนำในขั้นตอนดังกล่าวแล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน ดำเนินการทดสอบในทำนองเดียวกันกับข้อ 4.1.2 ซึ่งมีพื้นที่วิกฤตที่มี $df = 1, \alpha = 0.05$ คือ 3.84 ค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณแสดงในตารางที่ 13 จะเห็นได้ว่าค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณจะน้อยกว่าค่า x^2 จากตารางคือ 3.84 ซึ่งจะอยู่นอกเขตวิกฤต จึงกล่าวด้วยความเชื่อมั่น 95% ว่า ภายหลังจากที่ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ผ่านการชักนำ 20 และ 30 วันที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของทินิดาโซล กับกรณีที่ได้ผ่านการชักนำตามขั้นตอนดังกล่าวแล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน ความไวต่อยาจะไม่เปลี่ยนแปลง