

นิพนธ์ต้นฉบับ

การปลดปล่อยยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซลที่ผสมลงในฐานฟันเทียมอะคริลิก เรซิน และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคน

กฤติรัตน์ เกียรติศิริโรจน์, รัชตะวัน ศิริพันธ์, วิศรุฒ จิตร์วิวัฒน์, กมลรัตน์ มักประเสริฐ

บทคัดย่อ

- บทนำ:** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปลดปล่อยยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซลที่ผสมในอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน และชนิดบ่มตัวได้เอง และประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคน
- วิธีการศึกษา:** นำอะคริลิก เรซิน จำนวน ๓๖ ชิ้นแผ่นกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ๒๐ มิลลิเมตรหนา ๒ มิลลิเมตร แบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ผสมยาฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ โดยน้ำหนัก กลุ่มละ ๖ ชิ้นไปวิเคราะห์การปลดปล่อยปริมาณยาด้วย UV-Vis spectrophotometer ในวันที่ ๑, ๗, ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ แคนดิดา อัลบิแคน ของอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองโดยวิธี agar well diffusion test ผลที่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ
- ผลการศึกษา:** ผลการทดลองพบว่าอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซล มีการปลดปล่อยยา และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ ๑ และ ๗ จากนั้นมีค่าลดลงจนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ ขณะที่อะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนมีการปลดปล่อยยาไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ
- วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา:** การศึกษานี้พบว่าอะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซลสามารถปลดปล่อยยาต้านเชื้อราออกมาได้ ซึ่งวิธีการนี้อาจเป็นวิธีการหนึ่งที่จะนำไปสู่ตำแหน่งที่หวังผลในการรักษาการติดเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนบริเวณใต้ฐานฟันเทียมได้
- คำสำคัญ:** ฟลูโคนาโซล, ปากอักเสบเหตุฟันเทียม, แคนดิดา อัลบิแคน, ยาต้านเชื้อรา

วันที่รับบทความ: ๒๔ มิถุนายน ๒๕๕๕

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๒๘ กันยายน ๒๕๕๕

บทนำ

ปากอักเสบเหตุฟันเทียม (denture stomatitis) คือ การอักเสบของเนื้อเยื่อในช่องปากบริเวณที่รองรับฐานฟันเทียม พบได้ประมาณร้อยละ ๒๔-๖๐ ของผู้ป่วยที่ใส่ฟันเทียมชนิดถอดได้ โดยเฉพาะผู้สูงอายุและผู้ป่วยที่ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง^{๑,๒} ซึ่งจะพบในฟันบนมากกว่าฟันล่าง ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่มีอาการทางคลินิก มักตรวจพบเมื่อผู้ป่วยถอดฟันเทียมออก รอยโรคจะมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กเฉพาะที่ หรือบวมแดงกระจายตามบริเวณที่สัมผัสกับฟันเทียม ขึ้นอยู่กับระยะความรุนแรงของโรค สาเหตุหลักมาจากการดูแลรักษาความสะอาดฟันเทียมไม่ดี การสวมใส่ฟันเทียมตลอดเวลา หรือมีอาการบาดเจ็บจากการสวมใส่ฟันเทียมที่หลวมหรือไม่พอดี และถ้ามีการติดเชื้อร่วมด้วยมักพบการติดเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อแคนดิดาอัลบิแคน (*Candida albicans*)^๓ วิธีการดูแลรักษา คือ แนะนำให้ผู้ผู้ป่วยดูแลรักษาความสะอาดของช่องปากและฟันเทียม การลดปัจจัยที่ส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของเชื้อเพิ่มขึ้น เช่น งดการสูบบุหรี่ หรือไม่ควรใส่ฟันปลอมตลอดเวลาทั้งคืนขณะนอนหลับ นอกจากนี้การใช้สารปรับสภาพเนื้อเยื่อ (tissue conditioner) ใส่บริเวณใต้ฐานฟันเทียมจะช่วยกระตุ้นให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อได้ แต่เนื่องจากสารปรับสภาพเนื้อเยื่อเป็นวัสดุที่มีรูพรุน อาจทำให้เชื้อโรคมีการก่อตัวและสะสมได้ง่ายกว่าอะคริลิก เรซิน จึงไม่แนะนำให้ใช้ยกเว้นในกรณีที่ไม่มีทางเลือก จะแนะนำให้ผสมยาต้านเชื้อราลงในสารปรับสภาพเนื้อเยื่อด้วย และควรขัดแต่งผิวฟันเทียมให้เรียบ^๔ ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับการดูแลความสะอาดในช่องปากและฟันเทียมแล้วแต่รอยโรคไม่ดีขึ้นอาจพิจารณาให้ยาต้านเชื้อรา (antifungal medications) แก่ผู้ป่วยร่วมด้วย โดยจะเริ่มจากการให้ยาต้านเชื้อราเฉพาะที่ (topical antifungal drugs) เช่น นิสเตติน (Nystatin) หรือ ไมโคนาโซล (Miconazole)^{๕,๖} ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของยาน้ำแขวนตะกอน (oral suspension) เจล (gel) หรือยาทาเคลือบที่ผิว (lacquer) ข้อเสียของยาชนิดนี้คือรสชาติไม่ดี และอาจมีผลทำให้เกิดอาการที่ไม่พึงประสงค์ เช่น ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน หรือท้องร่วงได้ นอกจากนี้การให้ยาต้านเชื้อราโดยวิธีการรับประทาน (systemic antifungal drug) ยาที่พิจารณาเลือกใช้เป็นลำดับแรก คือ ฟลูโคนาโซล (Fluconazole) หรือคีโตโคนาโซล (Ketoconazole) โดยให้รับประทานต่อเนื่องเป็นระยะเวลา ๑-๒ สัปดาห์^๕ ข้อเสียของการให้ยารักษาเชื้อราชนิดรับประทานนั้น กว่าฤทธิ์ยาจะส่งถึงผลเชื้อรา จะต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายในร่างกาย ทำให้ผลการรักษาไม่ดีเท่าที่ควร และฤทธิ์ของยาอาจทำให้

เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ได้ ส่วนใหญ่วิธีนี้จะแนะนำให้ใช้ในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือมีภาวะของโรคเบาหวานร่วมด้วย

ในประเทศไทย ฐานฟันเทียมชนิดอะคริลิก เรซิน เป็นฐานฟันเทียมพอลิเมอร์ที่นิยมใช้มากที่สุดคิดเป็นกว่าร้อยละ ๘๐ ของฐานฟันเทียมทั้งหมด เนื่องจากขั้นตอนการผลิตฟันเทียมชนิดนี้ทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ ราคาไม่แพงและมีประสิทธิภาพในการใช้งานได้ใกล้เคียงกับฐานฟันเทียมชนิดอื่น แต่ข้อเสียหลักของฐานฟันเทียมชนิดอะคริลิก เรซิน คือ ค่าโมดูลัสยืดหยุ่น (modulus of elasticity) ความแข็งแรงต่อแรงดึง (tensile strength) และความแข็งผิว (surface hardness) มีค่าต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับโลหะ ทำให้เปราะ อ่อน แตกหักง่าย และการยึดอยู่ในช่องปากน้อยกว่าฐานฟันเทียมชนิดโลหะ ดังนั้นในการทำฐานฟันเทียมชนิดนี้จึงจำเป็นต้องปกคลุมพื้นที่ในช่องปากเพิ่มขึ้น และต้องทำให้มีความหนาเพียงพอเพื่อให้เกิดความแข็งแรงในการรองรับบดเคี้ยวได้ นอกจากนั้น อะคริลิก เรซิน มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ มีการสูญเสียหน้าที่ผิว ทำให้ฟันเทียมมีการเปลี่ยนมิติ รวมทั้งมีรูพรุนจึงเป็นที่อยู่ของจุลชีพ เช่น เชื้อราได้^๗

อะคริลิก เรซิน เป็นชื่อสามัญของ พอลิเมทิลเมทาคริเลต (poly (methyl methacrylate): PMMA) ซึ่งเป็นเอสเทอร์ของการรวมตัวปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์แบบเติม (additional polymerization) ของอนุกรมของกรดอะคริลิก [$\text{CH}_2=\text{CHCOOH}$] และอนุกรมของกรดเมทาคริลิก [$\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$] ปัจจุบัน International Standard Organization (ISO) ได้แบ่งประเภทของฐานฟันเทียมพอลิเมอร์ (denture base polymer) ตามชนิดของตัวกระตุ้นปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ออกเป็น ๕ ประเภท ได้แก่ พอลิเมอร์ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน (heat-polymerizable polymer) ชนิดบ่มตัวได้เอง (auto-polymerizable polymer) ชนิดเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic blank or powder) ชนิดบ่มตัวด้วยแสง (light-activated material) และชนิดบ่มตัวด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave cured material) โดยรูปแบบของอะคริลิก เรซินที่นิยมใช้มากที่สุดในวงการทันตกรรม คือ อะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน (heat-polymerizable polymer) และชนิดบ่มตัวได้เองด้วยปฏิกิริยาเคมี (auto-polymerizable polymer) ชนิดแบบผง (ส่วนพอลิเมอร์) กับน้ำ (มอนอเมอร์) ซึ่งต้องผสมเข้าด้วยกันก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นฐานฟันเทียม

การศึกษาต่างๆ ได้ศึกษาเกี่ยวกับการรักษาการอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณที่รองรับฟันเทียมโดยอาศัยวิธีการผสมยาต้านเชื้อราลงในอะคริลิก เรซิน ที่ใช้ทำฐานฟันเทียมให้

ผู้ป่วยใช้งาน ทดแทนฟันเทียมเดิมที่มีการก่อตัวและมีการสะสมของเชื้อโรคบริเวณฐานฟันเทียม โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ฐานฟันเทียมที่มีส่วนผสมของยาต้านเชื้อราเป็นวิธีการที่จะนำไปสู่ตำแหน่งที่มีการติดเชื้อได้โดยตรงและก่อให้เกิดผลในการรักษาในตำแหน่งเป้าหมายได้เต็มที่ ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้ยา ลดค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการรักษาโรคได้นอกจากนี้ยังช่วยลดโอกาสในการเกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาด้วย^{๑-๔}

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการปลดปล่อยยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซลที่ผสมในอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน และชนิดบ่มตัวได้เอง และประสิทธิผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคน

ตารางที่ ๑ แสดงการแบ่งกลุ่มทดลอง

กลุ่ม	วิธีทดสอบ	จำนวน (ชิ้น)	กลุ่มทดลอง
A1 Control	การปลดปล่อยปริมาณยา	๖	Heat-cured acrylic resin (A1H)
		๖	Self-cured acrylic resin (A1S)
A2	การปลดปล่อยปริมาณยา	๖	Heat-cured acrylic resin +
		๖	Fluconazole 5%w/w (A2H)
			Self-cured acrylic resin +
			Fluconazole 5%w/w (A2S)
B1 Control	ความไวของเชื้อต่อยา	๖	Self-cured acrylic resin (B1)
B2	ความไวของเชื้อต่อยา	๖	Self-cured acrylic resin +
			Fluconazole 5%w/w (B2)

ทำการวัดสารละลายมาตรฐานการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve) โดยการนำฟลูโคนาโซลผสมในน้ำกลั่น ที่ความเข้มข้น ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐, ๕๐ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปวัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer จะได้ค่าการดูดกลืนแสงออกมา แล้วนำมาสร้างกราฟสมการที่ได้คือ $y = 0.0024x + 0.0014$, $R^2 = 0.999$ โดย y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (นาโนเมตร) x คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของยาฟลูโคนาโซล (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร: ug/ml)

นำกลุ่มทดลองกลุ่ม A ทดสอบวัดปริมาณยาฟลูโคนาโซล ที่ถูกปล่อยออกมาจากแผ่นอะคริลิก เรซิน

วิธีการศึกษา

เตรียมอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน จำนวน ๑๒ ชิ้น และชนิดบ่มตัวได้เอง จำนวน ๒๔ ชิ้น ทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ๒๐ มิลลิเมตร หนา ๒๖ มิลลิเมตร แบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังแสดงในตารางที่ ๑ โดยอะคริลิก เรซิน แต่ละชนิดในกลุ่มควบคุมจะได้จากการผสมส่วนผงพอลิเมอร์ (polymer) ๒ กรัมและส่วนน้ำมอนอเมอร์ (monomer) ๑.๒ มิลลิลิตร (ตามอัตราส่วนที่บริษัทกำหนด) ในกลุ่มทดลองได้ผสมส่วนผงฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ โดยน้ำหนัก เพิ่มลงในส่วนผสมของอะคริลิก เรซิน แต่ละชนิด ส่วนผสมที่ได้นำไปอัดบนแบบหล่อปูนที่ได้เตรียมขนาดและรูปร่างของแผ่นอะคริลิก เรซิน ที่ต้องการไว้แล้ว นำชิ้นงานไปบ่มให้แข็งตัวตามชนิดของตัวกระตุ้น หลังจากนั้นนำชิ้นงานมาขัดให้เรียบหนึ่งด้านด้วยกระดาษทรายน้ำ ส่วนอีกหนึ่งด้านไม่ขัดเพื่อเป็นการจำลองลักษณะของฟันเทียมที่ใช้จริง

โดยการแช่ชิ้นงานในน้ำกลั่นปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง แล้วทำการวัดปริมาณยาฟลูโคนาโซล ที่ปล่อยออกมาด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น ๒๖๑ นาโนเมตรในวันที่ ๑, ๗, ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ โดยจะทำการเปลี่ยนน้ำกลั่นหลังจากวัดปริมาณยาแล้วทุกครั้ง ค่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของยาฟลูโคนาโซล (y) ที่วัดได้จะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณการปลดปล่อยยาออกมา (x) ซึ่งคำนวณได้จากการหาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของยาจากสมการที่ได้จากการสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve) คือ $x = (y - 0.0014) / 0.0024$

การเตรียมเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อใน Sabouraud dextrose broth ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง ทำการควบคุมปริมาณเชื้อโดยการนับบนเครื่องฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer) ที่มองจากกล้องจุลทรรศน์แล้วปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการเจือจางเชื้อต่อเนื่องจนได้ความเข้มข้น 2.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml)

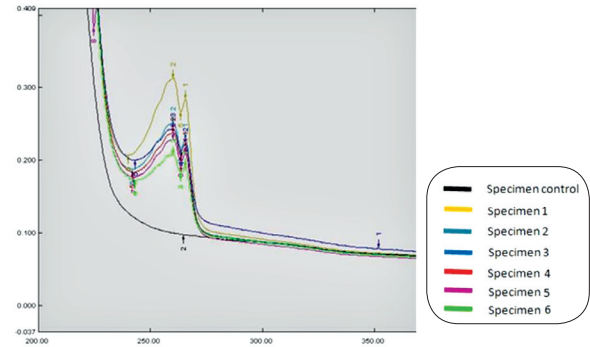
กลุ่มทดลองกลุ่ม B นำไปทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคน โดยวิธี agar well diffusion test โดยหลังจากเตรียมความเข้มข้นของเชื้อแล้ว ให้ทำการเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน ๑๕ นาที โดยใช้ sterile swab จุ่มลงในเชื้อ แล้วนำมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น ๓ ระบาย และป้ายรอบขอบด้านในของอาหารเพาะเชื้ออีกครั้งหนึ่งเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปล่อยให้ผิวอาหารเพาะเชื้อแห้งประมาณ ๑๐ นาที จากนั้นเจาะรูบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นละ ๒ รูสำหรับกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ๔ มิลลิเมตร แล้วใช้ปิเปตต์ดูดสารละลาย ๒๐ ไมโครลิตร ที่ได้จากการแขอะครีลิก เรซิน ในกลุ่ม B ในน้ำกลั่นปริมาตร ๑๐ มิลลิตร เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง ทำการหยดสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เจาะรูไว้ นำไป incubate ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา ๑๖-๑๘ ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone เป็นมิลลิเมตร ด้วย sliding caliper เป็นเวลา ๗ วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติโดย repeated measure ANOVA เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของฟลูโคนาโซลที่ปลดปล่อยจากแผ่นอะครีลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เอง ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ผสมยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซล ในแต่ละช่วงเวลา และใช้สถิติ Pairwise comparisons โดยวิธีของ Bonferoni เพื่อเปรียบเทียบปริมาณการปลดปล่อยของอะครีลิก เรซินชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมยาฟลูโคนาโซลในแต่ละสัปดาห์ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

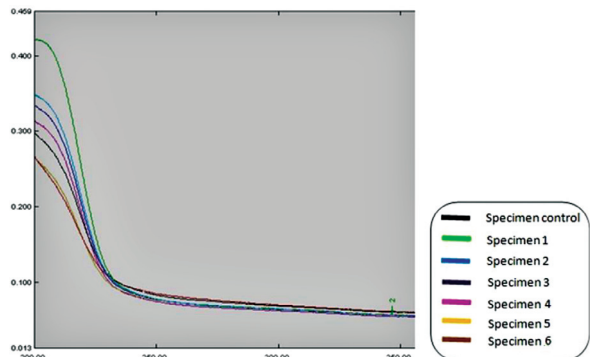
ผลการศึกษา

จากการวิเคราะห์หาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของฟลูโคนาโซลที่ปลดปล่อยออกมาจากอะครีลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เอง ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer พบว่า มีการปลดปล่อยยาสูงสุดในวันแรกและลดลงจนคงที่ในวันที่ ๗ ดังแสดงในแผนภูมิที่ ๑ ซึ่งลักษณะของกราฟเป็นไปตาม zero-order spectra ของยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซล ในขณะ

ไม่พบสเปกตรัมของการปลดปล่อยยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลจากแผ่นอะครีลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน ดังแผนภูมิที่ ๒



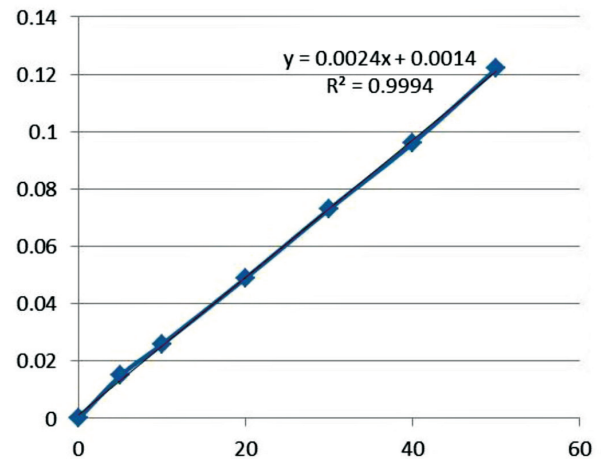
แผนภูมิที่ ๑ แสดงเส้นสเปกตรัมของฟลูโคนาโซล ที่ปลดปล่อยจากอะครีลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ โดยน้ำหนัก หลังจากแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา ๑ วัน



แผนภูมิที่ ๒ แสดงเส้นสเปกตรัมของฟลูโคนาโซลที่ปลดปล่อยจากอะครีลิก เรซินชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนที่ผสมฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ โดยน้ำหนัก หลังจากแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา ๑ วัน

จากการวัดสารละลายมาตรฐานการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลที่มีความเข้มข้นต่างๆ เพื่อสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve) ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่า สารแต่ละชนิดจะสามารถดูดกลืนรังสีได้ในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน และปริมาณการดูดกลืนรังสีขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนั้น ได้กราฟความเข้มข้นมาตรฐานดังแสดงในแผนภูมิที่ ๓ และเมื่อทำการ

วัดปริมาณยาฟลูโคนาโซลที่ถูกปล่อยออกมาจากแผ่นอะคริลิก เรซินในน้ำกลั่นพบว่ามีการปลดปล่อยยาจากแผ่นอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองสูงสุดในวันแรก และปริมาณการปลดปล่อยยาจะลดลงเรื่อยๆ ในวันที่ ๗ จนมีค่าคงที่ในวันที่ ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ ดังแสดงในตารางที่ ๒ และแผนภูมิที่ ๔ อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ในวันที่ ๗, ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ แผ่นอะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซล มีปริมาณการปล่อยยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลสูงกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ๐.๐๕ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณการปลดปล่อยยาของอะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวได้เองในแต่ละสัปดาห์พบว่าในสัปดาห์ที่ ๑ เท่านั้นที่มีการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลแตกต่างจากสัปดาห์ที่ ๒, ๓ และ ๔ อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการปล่อยยาในระหว่างสัปดาห์ที่ ๒, ๓ และ ๔



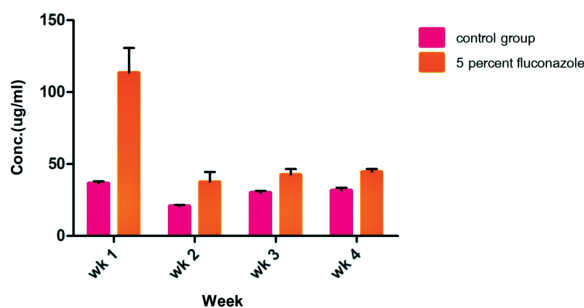
แกน x คือ ความเข้มข้นของยา (ug/ml)

แกน y คือ การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๒๖๑ นาโนเมตร

แผนภูมิที่ ๓ แสดงค่าความเข้มข้นมาตรฐานของยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลและสมการของกราฟ

ตารางที่ ๒ แสดงค่าเฉลี่ย (ไม่โครกรัมต่อมิลลิเมตร) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลจากอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองและชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน

Time	Self-cured acrylic resin		Self-cured acrylic resin+ Fluconazole		Heat-cured acrylic resin		Heat-cured acrylic resin+ Fluconazole	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
๑	๓๖.๗๗๗	๑.๘๗๕	๑๐๐.๕๔๗	๑๕.๖๓๓๗	๓๖.๕๖๖	๑.๖๘๗	๓๘.๕๑๓	๑.๖๖๖
๗	๓๖.๗๐๘	๑.๒๐๐	๑๑๓.๕๑	๑๗.๑๗๐	๓๖.๑๗๒	๑.๐๘๕	๓๒.๑๕๒	๐.๙๓๓
๑๔	๒๐.๘๐๕	๐.๗๒๔	๓๗.๖๘๐	๖.๘๗๘	๑๘.๕๑๓	๑.๓๐๒	๒๐.๕๒๗	๑.๖๘๘
๒๑	๓๐.๒๕๐	๑.๑๑๘	๔๒.๖๘๐	๓.๘๔๔	๓๖.๖๓๘	๑.๔๕๔	๓๖.๘๔๗	๒.๑๓๑
๒๘	๓๖.๖๓๘	๑.๘๑๒	๔๔.๖๘๔	๑.๘๗๕	๓๕.๓๑๓	๐.๗๖๕	๓๕.๘๗๒	๐.๘๑๕



แผนภูมิที่ ๔ ปริมาณการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลจากอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เอง ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ในสัปดาห์ที่ ๑-๔

การทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ ในการฆ่าเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคน พบการเกิด inhibition zone รอบๆแผ่นอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซล ดังแสดงในรูปที่ ๑ ขณะที่ไม่พบการเกิด inhibition zone ในกลุ่มควบคุม เมื่อทำการสังเกตเป็นเวลา ๗ วัน จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขอบเขตการยับยั้ง (inhibition zone) ของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคน ต่อยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลพบว่าค่าเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้งเชื้อมีค่า ๒๐.๐๗ มิลลิเมตร ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ ๐.๔๗๖ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (CV) ที่ ๐.๐๒๓



รูปที่ ๑ แสดงการเกิดขอบเขตการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ของสารละลายอะคริลิก เรซินชนิดบ่มตัวได้เอง ที่ผสมฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิจารณ์ และสรุปผลการศึกษา

ในขั้นตอนการผลิตแผ่นอะคริลิก เรซิน พบว่า มีอนุภาคสีขาวของยาปนอยู่ ซึ่งการคงอยู่ของยาฟลูโคนาโซลในอะคริลิก เรซิน เกิดจากส่วนผงของยาฟลูโคนาโซลเข้าไปผสมรวมกับส่วนผง (polymer) และส่วนน้ำ (monomer) ของอะคริลิก เรซิน โดยไม่ได้มีการสร้างพันธะเคมี แต่จะแทรกอยู่กับอนุภาคของอะคริลิก เรซิน^{๓๐} ฟลูโคนาโซลเป็นสารที่มีพันธะเคมีแบบมีขั้วคือ สามารถละลายได้ดีที่สุดในแอลกอฮอล์ ละลายได้ในน้ำและละลายได้เล็กน้อยในสารที่มีองค์ประกอบโครงสร้างทางเคมีเป็น aromatic ring^{๓๑} ส่งผลให้แผ่นอะคริลิก เรซิน ที่ได้มีอนุภาคเล็กๆ สีขาวแทรกปนอยู่ซึ่งอาจมีผลต่อความสวยงามของฐานฟันเทียม อย่างไรก็ตามเนื่องจากการผสมยาฟลูโคนาโซลลงไปในอะคริลิก เรซิน มีจุดมุ่งหมายเพียงเพื่อเป็นทางขนส่งตัวยานำไปถึงตำแหน่งในการรักษาโรคเท่านั้น ซึ่งหลังจากที่มีการหายของโรคแล้วควรพิจารณาทำฟันเทียมชุดใหม่ให้ผู้ป่วยแทน

อะคริลิก เรซิน มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้ถึงร้อยละ ๓๐ โดยอาศัยกระบวนการออสโมซิส (osmosis) ซึ่งกลไกการดูดซึมเป็นไปตามกฎการแพร่ของฟิค (Fick's Law) ที่ประกอบด้วยกระบวนการดูดซึมเป็น ๒ ระยะ คือระยะแรกการดูดซึมน้ำเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นเส้นตรงและตามด้วยระยะที่อัตราการดูดซึมหรือไหลออกอย่างช้าๆ ขึ้นอยู่กับสารละลายที่สัมผัส^{๓๒-๓๓} โดยอาศัยคุณสมบัติพื้นผิวของอะคริลิก เรซิน การศึกษาต่างๆ ได้ศึกษาพบว่า การผสมยาต้านเชื้อรา หรือยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ลงในฐานฟันเทียมชนิดอะคริลิก เรซิน จะช่วยให้ยาเข้าถึงตำแหน่งที่เกิดการติดเชื้อในช่องปากได้ดีขึ้นและเป็นการลดปริมาณการใช้ยาเพื่อป้องกันการเกิดผลในการรักษาโรคได้^{๓๓-๓๔}

จากผลการทดลองนี้พบว่า แผ่นอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ มีการปลดปล่อยยาออกมาในน้ำกลั่นได้สูงสุดในวันแรกและปริมาณการปลดปล่อยยาค่อยๆ ลดลงภายใน ๗ วันหลังจากนั้นการปลดปล่อยยาจะคงที่ในวันที่ ๑๔, ๒๑ และเมื่อวัดซ้ำจนครบ ๒๘ วัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการผสมยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซลลงในอะคริลิก เรซิน นั้น ยาฟลูโคนาโซลสามารถเข้าไปรวมอยู่ในส่วนผสมของอะคริลิก เรซินได้โดยไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผลในการออกฤทธิ์ของยาและไม่ทำให้เกิดผลในการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะการดูดซึมและการแพร่ของอะคริลิก เรซิน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Dar-Odez และคณะ^{๓๕} ที่พบว่า ความสามารถในการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลอาจขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่ผสมอยู่ในอะคริลิก เรซิน ซึ่งการปลดปล่อยยาในระยะแรกจะมีการปลดปล่อยออกมาได้สูงซึ่งเป็นผลจากกระบวนการปลดปล่อยยาออกมาจากบริเวณผิวด้านนอกของอะคริลิก เรซิน ขณะที่การปลดปล่อยยาในระยะต่อมา มีการปลดปล่อยได้น้อยลงและช้าลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากกระบวนการปลดปล่อยที่ซับซ้อนขึ้นจากส่วนประกอบของกลุ่มของเหลวในอะคริลิก เรซิน ที่ล้อมรอบโมเลกุลของยาและปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มของเหลวดังกล่าวกับกลไกการดูดซึมของเหลวของอะคริลิก เรซิน เอง^{๓๖} นอกจากนี้คุณสมบัติของอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองหลังจากเกิดปฏิกิริยาบ่มตัวแล้วอาจมีส่วนมอนอเมอร์ที่ยังไม่ได้เกิดปฏิกิริยาหลงเหลืออยู่ ซึ่งอาจมีผลต่อความแข็งแรงแต่มีความเปราะและการเกิดรูพรุนในชิ้นงานของอะคริลิก เรซิน^{๓๗} นอกจากนี้การผสมส่วนผงของยาฟลูโคนาโซลลงไปในอาจทำให้เกิดมีรูพรุนในเนื้อของอะคริลิก เรซิน เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจช่วยส่งเสริมให้กระบวนการปลดปล่อยยาได้ดีขึ้น^{๓๘}

ในทางตรงกันข้าม อะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนที่ผสมฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ มีการปลดปล่อยยาออกมาในน้ำกลั่นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ลำดับที่แรกจนครบ ๔ ลำดับที่ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของยาจากกระบวนการบ่มอะคริลิก เรซินให้แข็งตัวด้วยความร้อนที่สูงกว่าค่าจุดหลอมเหลวของฟลูโคนาโซลที่ ๑๓๕.๓ องศาเซลเซียส^{๓๙} หรืออาจเกิดจากกระบวนการบ่มตัวของปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ของอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนที่เกิดขึ้นได้สมบูรณ์กว่าอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของอะคริลิก เรซิน ชนิดนี้มีความแข็งผิว และมีรูพรุนที่ผิวของอะคริลิก เรซิน น้อยกว่าทำให้ความสามารถในการดูดซึมน้ำหรือปลดปล่อยยาได้น้อยลง

จากการศึกษาของ Patel MP และคณะ^{๑๔} พบว่าการเติมสารอื่นๆ เข้าไปผสมในอะคริลิก เรซิน ที่ใช้เป็นฐานฟันเทียมสามารถผสมได้ไม่เกินร้อยละ ๑๐ โดยน้ำหนัก เพื่อไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ และโครงสร้างของฐานฟันเทียม ในการทดลองนี้ได้ผสมส่วนผงของยา Diflucan[®] ชนิดแคปซูล ๒๐๐ มิลลิกรัมโดยการคำนวณปริมาณยาที่ผสมลงในอะคริลิก เรซิน ประมาณร้อยละ ๑๐ โดยน้ำหนัก ซึ่งคิดเป็นปริมาณฟลูโคนาโซลร้อยละ ๕ ส่วนที่เหลือเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ของยา เนื่องจากปริมาณการปลดปล่อยยาอาจขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยา^{๑๕} และการทดลองในครั้งนี้พบว่า ปริมาณการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นร้อยละ ๕ โดยน้ำหนักจากอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองมีค่าการปลดปล่อยยาลดลงจนคงที่ในลำดับที่ ๒-๔ ซึ่งปริมาณยาที่คงอยู่อาจไม่สามารถให้ผลในการรักษาโรคที่ตำแหน่งเป้าหมายได้เพียงพอ ดังนั้น การผสมปริมาณความเข้มข้นของยาในอะคริลิก เรซิน เพิ่มขึ้นโดยลดส่วนประกอบอื่นๆ ของยาอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการรักษาเพื่อให้ปริมาณยาที่ให้ผลในการรักษาคงอยู่ในตำแหน่งของโรคและมีปริมาณที่ต้องการถึง ๒๘-๓๐ วัน^{๑๖}

การวัดปริมาณการดูดกลืนแสงของยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลที่ถูกปล่อยออกมาจากอะคริลิก เรซิน ทั้งสองชนิดได้จากกระบวนการ simple diffusion โดยอาศัยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น ๒๐๐-๔๐๐ นาโนเมตร จะพบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของยาฟลูโคนาโซลที่ผสมอยู่ในอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองในรูปแบบเฉพาะในลักษณะ zero-order spectra ที่ความยาวคลื่น ๒๖๑ นาโนเมตร ในขณะที่ไม่พบลักษณะสเปกตรัมดังกล่าวจากอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน นอกจากนั้น ยังมีการกล่าวถึงสารชนิดอื่นๆ ที่เป็นส่วนผสมของยาในแคปซูลพบว่า ไม่มีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว^{๑๗}

การทดสอบประสิทธิภาพของการปลดปล่อยยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นร้อยละ ๕ โดยน้ำหนักจากแผ่นอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุชักนำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันเทียม (denture-induced stomatitis) โดยการประเมินผลด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา จากการทดลองนี้พบว่า ความเข้มข้นของยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลที่ปลดปล่อยออกมามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคน โดยพบการเกิด inhibition zone ขึ้นบน

อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ แผ่นอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองที่ผสมฟลูโคนาโซลในปริมาณร้อยละ ๕ โดยน้ำหนัก โดยผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรายังคงมีประสิทธิภาพในช่วงเวลาอย่างน้อย ๗ วัน

จากข้อจำกัดในการทดลองสามารถสรุปผลการศึกษาดังนี้ คือ

- ยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลสามารถเข้าไปผสมร่วมกับอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองโดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผลการรักษาของยา ในขณะที่ไม่เกิดผลการออกฤทธิ์ของยาเมื่อผสมกับอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน
- การปลดปล่อยยาด้านเชื้อราฟลูโคนาโซลจากฐานฟันเทียมอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองช่วยให้ความเข้มข้นของยาคงอยู่ในตำแหน่งที่มีพยาธิสภาพโดยตรงซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณที่รองรับฐานฟันเทียมบนเป็นตำแหน่งที่มักจะพบรอยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนได้บ่อยที่สุด
- ผลการทดลองทางจุลชีววิทยายืนยันประสิทธิภาพของยาฟลูโคนาโซลที่ปลดปล่อยออกมาจากอะคริลิก เรซิน ชนิดบ่มตัวได้เองในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแคนดิดา อัลบิแคน

การศึกษาต่อไปควรพิจารณาเพิ่มความเข้มข้นของยาที่ผสมลงในอะคริลิก เรซิน เพื่อให้ผลการรักษาคงอยู่ได้ไม่ต่ำกว่า ๒๘ วัน หรือการพิจารณาผสมยาด้านเชื้อราชนิดอื่นร่วมด้วย นอกจากนี้ การศึกษาทางคลินิกมีความสำคัญเพื่อยืนยันว่าวิธีการให้ยาด้านเชื้อราผ่านทางฐานฟันเทียมให้ผลในการรักษาการติดเชื้อบริเวณที่รองรับฟันเทียมได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่

เอกสารอ้างอิง

๑. Maller US, Karthik KS, Maller SV. Candidiasis in denture wearers- a literature review. JIADS 2010;1:27-30.
๒. Daven JC. The oral distribution of Candida in denture stomatitis. Br Dent J 1970;118:542.
๓. Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of Candida-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. Gerodontology 2005;22:168-76.
๔. Schneid TR. An in vitro analysis of a sustained release system for the treatment of denture stomatitis. Spec Care Dentist 1992;12:245-50.

- | | |
|--|---|
| ୬. Wala M, Muna H, Nesreen A, Sandra K. A new form of intraoral delivery of antifungal drugs for the treatment of denture-induced oral candidosis. <i>Eur J Dent</i> 2009;3:257-66. | ୧୧. Dar-Odeh NS, Shehabi AA. Oral candidosis in patients with removable dentures. <i>Mycoses</i> 2003;46:187-91. |
| ୭. Addy M. In vitro studies into the use of denture base and soft liner materials as carriers for drugs in the mouth. <i>J Oral Rehabil</i> 1981;8:131-42. | ୧୨. Douglas WH. Dental materials as carriers for therapy. <i>Dent Update</i> 1997;4:395. |
| ୧୧. Budtz-Jørgensen E, Carlino P. A miconazole lacquer in the treatment of Candida-associated denture stomatitis. <i>Mycoses</i> 1994;37:131-5. | ୧୩. Riggs PD, Braden M, Patel M. Chlorhexidine release from room temperature polymerising methacrylate systems. <i>Biomaterials</i> . 2000;21:345-51. |
| ୧୨. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H, Nakanoda S. Antifungal effect of zerolite-incorporated tissue conditioner against Candida albicans growth and/or acid production. <i>J Oral Rehabil</i> 1997;24:350-57. | ୧୪. White TC, Mark KA, Bowden RA. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. <i>Clin Microbiol Rev</i> 1998;11:382-402. |
| ୧୩. Redding S, Bhatt B, Rawls HR, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J. Inhibition of Candida albicans biofilm formation on denture material. <i>Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod</i> 2009;107:669-72. | ୧୫. Johnson EM, Warnock DW, Luker J, Porter SR, Scully C. Emergence of azole drug resistance in Candida species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. <i>J Antimicrob Chemother</i> 1995;35:103-14. |
| ୧୪. Pusateri CR, Monaco EA, Edgerton M. Sensitivity of Candida albicans biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. <i>Arch Oral Biol</i> 2009;54:588-94. | ୧୬. Jalali F, Rajabi M. Extractive spectrophotometric determination of fluconazole by ion-pair complex formation with bromocresol green. <i>J Chemistry</i> 2007;25:1300-3. |
| ୧୫. Budtz-Jørgensen E, Lombardi T. Antifungal therapy in the oral cavity. <i>Periodontol</i> 2000 1996;10:89-106. | ୧୭. Patel MP, Cruchley AT, Coleman DC, Swai H, Braden M, Williams DM. A polymeric system for the intra-oral delivery of an anti-fungal agent. <i>Biomaterials</i> 2001;22:2319-24. |
| | ୧୮. Ekiert RJ, Krzek J. Determination of azole antifungal medicine using zero-order and derivative uv spectrophotometer. <i>Acta Pol Pharm</i> 2009;66:19-24. |

Abstract

The release of Fluconazole antifungal drug from acrylic resin denture base and the efficacy on growth inhibition of *Candida albicans*

Kritirat Kiatsirirote, Ratchatawan Siripan, Wisarut Jitwiwat, Kamolrat Makprasert

Faculty of Dentistry, Thammasat University

Introduction: The objectives of this study was to investigate the release of Fluconazole antifungal drug from an auto and heated-polymerized poly methyl methacrylate (PMMA) denture base resin and the effect of the released drug on the growth of *Candida albicans*.

Method: Acrylic resins were prepared in disc shape (20 mm. in diameter, 26 mm. thickness) for 36 specimens and divided into the group of control and the group of PMMA discs doped with Fluconazole antifungal drug (5%ww) for 6 of each. The released antifungal drug from the resin discs were measured by UV-Vis spectrophotometer on the day of 1, 7, 14, 21 and 28. In addition, agar well diffusion method of inhibition zone was used to investigate the effect of Fluconazole releasing from auto-polymerized PMMA on a resistant strain of *Candida albicans*.

Results: The results revealed that it was feasible to incorporate Fluconazole with denture acrylic resin as the leaching of Fluconazole out of the auto-polymerized resin into distilled water was shown a significantly higher than the control on day 1 and 7 ($P<0.05$). However, Fluconazole releasing rate was significantly lower and stable throughout the 28 days test period. Moreover, the released drug from auto-polymerized resin demonstrated an antifungal activity against the resistant *Candida albicans* on day 1 to 7 when the microbiological technique was used. In contrast to the heated-polymerized resin which was not shown significant release of Fluconazole from the resin.

Discussion and Conclusion: This investigation found a contribution of treatment of fungal infections directed to the oral cavity. Fluconazole releasing from auto-polymerized resin denture base may be a delivery system to achieve the therapeutic effect.

Key words: Fluconazole, Denture stomatitis, *Candida albicans*, Antifungal drug