

ประสิทธิภาพของโพลีเดนทในการกำจัดเชื้อราแคนดิดาในลักษณะแผ่นชีวภาพบนเรซินอะคริลิกในห้องปฏิบัติการ

ศิริเพ็ญ วณแสงสกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ปิติ คงศิริทูล

ทันตแพทย์ แผนกทันตกรรม
โรงพยาบาลปทุมธานี จ.ปทุมธานี

รฐา ปะเทียรทอง

ทันตแพทย์ แผนกทันตกรรม
โรงพยาบาลศรีวิไล จ.หนองคาย

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ศิริเพ็ญ วณแสงสกุล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121
โทร: 02-9869213 ต่อ 7149
อีเมล: penwana@yahoo.com

บทคัดย่อ

แผ่นชีวภาพแคนดิดา (*Candida* biofilm) บนพื้นผิวของฟันปลอมเป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญในการทำให้เกิดโรคปากอักเสบเหตุฟันปลอม (denture stomatitis) การทำความสะอาดฟันปลอมทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการทำความสะอาดทางกลหรือการใช้สารเคมี อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าวิธีการแปรงฟันปลอมอย่างเดียวไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่เกาะบนฟันปลอม โพลีเดนทที่เป็นสารเคมีทำความสะอาดฟันปลอมชนิดเดียวที่มีจำหน่ายในประเทศไทยและทันตแพทย์มักแนะนำให้ใช้เป็นวิธีการเสริมเพิ่มเติมจากการทำความสะอาดฟันปลอมปกติ โดยผู้ผลิตอ้างว่าสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียบนฟันปลอมได้เมื่อใช้เป็นประจำ แต่มีได้กล่าวถึงประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยเฉพาะเชื้อราซึ่งเป็นที่ทราบทั่วไปว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคปากอักเสบเหตุฟันปลอม การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของโพลีเดนทในการกำจัดเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ในลักษณะแผ่นชีวภาพบนเรซินอะคริลิกในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบทั้งผลของปริมาณยาที่ใช้ และระยะเวลาที่แช่ต่อประสิทธิภาพดังกล่าว โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา (Sabouraud Dextrose Broth; SDB) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปเลี้ยงบนแผ่นเรซินอะคริลิกขนาด 10x10x2 มิลลิเมตร เป็นเวลา 6 วันเพื่อให้เป็นแผ่นชีวภาพแคนดิดาสำหรับการใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของโพลีเดนทที่ปริมาณยาและระยะเวลาแช่ต่าง ๆ กัน กลุ่มควบคุมคือแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนเรซินอะคริลิกที่ถูกแช่ในน้ำกลั่น การวัดจำนวนเชื้อราที่เหลืออยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิก ทำโดยการวัดค่าความขุ่น (Optical Density; OD) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อราแสดงผลเป็นร้อยละของการลดลงของจำนวนเชื้อราในกลุ่มทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การทดสอบความแตกต่างทางสถิติใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way analysis of variance; ANOVA) ผลการทดลองพบว่าโพลีเดนทสามารถลดแผ่นชีวภาพเชื้อราแคนดิดาบนเรซินอะคริลิกได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .05$) ประสิทธิภาพดังกล่าวเพิ่มขึ้นตามปริมาณของโพลีเดนทที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาที่แช่นานขึ้นไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพดังกล่าวได้ โดยสรุปพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราแคนดิดาบนแผ่นเรซินอะคริลิกของโพลีเดนทขึ้นกับปริมาณของเม็ดยาโพลีเดนทที่ใช้

บทนำ

โรคปากอักเสบเหตุฟันปลอม (denture stomatitis) เป็นการอักเสบเรื้อรังของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอมที่เกิดขึ้นได้บ่อยในผู้ที่ใส่ฟันปลอมถอดได้โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ โดย

มีอุบัติการณ์การเกิดโรคแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 11 ถึงร้อยละ 67 ขึ้นอยู่กับกลุ่มตัวอย่าง¹ โรคปากอักเสบเหตุฟันปลอมเป็นโรคที่เกิดจากหลายปัจจัย เช่น การใส่ฟันปลอมตลอดเวลา หรือการไม่แนบสนิทของฟันปลอม ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคนี้คือ ปัจจัยทางด้านจุลชีววิทยา โดยพบว่าการปรากฏของเชื้อราอวัยวะที่อยู่ในคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอม (denture plaque) โดยเฉพาะเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันปลอม² ในขั้นแรกเชื้อราจะมีการเกาะยึด (adhere) บนเนื้อเยื่อช่องปากหรือที่ฐานฟันปลอม แล้วจึงรวมตัวกันเป็นกลุ่ม (colony) เมื่อเวลาผ่านไปคราบเยื่อเมือกจะหนาตัวเพิ่มมากขึ้นและก่อตัวเป็นแผ่นชีวภาพ (biofilm) ของเชื้อรา มีการรายงานว่าการที่รวมกลุ่มแล้วก่อตัวเป็นแผ่นชีวภาพแคนดิดา (*Candida* biofilm) บนฟันปลอมอาจจะเป็นแหล่งสะสมของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการติดเชื้อที่แพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ (disseminated infections) ได้ เช่น การติดเชื้อที่ระบบทางเดินอาหาร³ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยสูงอายุ หรือผู้ที่มียารักษาโรคอื่น นอกจากนี้ ยังมีรายงานความเป็นไปได้ว่าคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมที่มีแคนดิดาอยู่อาจเป็นสาเหตุของโรคปริทันต์อักเสบหรือโรคฟันผุที่ตัวฟันหรือรากฟันของฟันหลักและฟันข้างเคียง⁴

ดังนั้นการดูแลทำความสะอาดฟันปลอมเพื่อกำจัดคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมจึงมีความจำเป็น การทำความสะอาดฟันปลอมมี 2 วิธีหลัก คือ การทำความสะอาดเชิงกล และการทำความสะอาดโดยการแช่ฟันปลอมในสารเคมี จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำความสะอาดฟันปลอมด้วยการแปรงและการใช้สารเคมี พบว่าประสิทธิภาพของการทำความสะอาดฟันปลอมด้วยการแปรงอย่างเดียวไม่เพียงพอในการลดคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอม⁵ นอกจากนี้มีงานวิจัยพบว่าเชื้อราตระกูลแคนดิดา อัลบิแคนส์มีการรวมกลุ่มและแทรกซึม (penetrate) เข้าไปในวัสดุที่เป็นฟันปลอมได้ง่าย^{6,7} ถึงแม้ว่าการทำความสะอาดฟันปลอมด้วยวิธีการแปรงพร้อมกับการใช้สารป้ายทำความสะอาดฟันปลอม (denture cleaning paste) จะสามารถกำจัดเชื้อราแคนดิดาออกจากพื้นผิวของฐานฟันปลอมได้ แต่ทำให้เกิดพื้นผิวที่ขรุขระได้มากกว่าการแช่ด้วยสารเคมี⁸ ดังนั้น การแช่ฟันปลอมในสารเคมีจึงถูกแนะนำให้ใช้เป็นวิธีร่วมในการทำความสะอาดฟันปลอมโดยเฉพาะในผู้ป่วยสูงอายุที่รักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลานานหรือผู้ที่ไม่สามารถดูแลสุขภาพช่องปากทั่วไปได้^{9,10}

สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาดฟันปลอมสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลักคือ สารทำความสะอาดฟันปลอม (denture cleanser) และน้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectants) โดยสารทำความสะอาด

สะอาดฟันปลอมยังสามารถจำแนกตามรูปแบบของปฏิกิริยา (mode of actions) และสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักได้เป็น 5 กลุ่มคือ กลุ่มอัลคาไลน์เปอร์ออกไซด์ กลุ่มอัลคาไลน์ไฮโปคลอไรด์ กลุ่มเอนไซม์ กลุ่มกรด กลุ่มน้ำยาบ้วนปาก¹¹ โดยกลุ่มอัลคาไลน์เปอร์ออกไซด์เป็นสารทำความสะอาดฟันปลอมที่นิยมใช้มากที่สุด ตัวอย่างที่มีขายในประเทศไทย ได้แก่ โพลีเดนท (Polident®) โดยสารเริ่มต้นเป็นสารละลายอัลคาไลน์ คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เมื่อละลายน้ำจะให้สารละลายที่ไม่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป จึงไม่ค่อยเป็นอันตราย

ทั้งนี้การประเมินประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมมีความจำเป็นเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาให้ผู้ป่วยตัดสินใจใช้ในคลินิก การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมชนิดต่าง ๆ ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่เกาะอยู่ที่ฐานฟันปลอมได้มีการศึกษาทั้งในห้องปฏิบัติการ¹²⁻¹⁶ และในผู้ป่วย⁹ และได้มีการทบทวนผลการศึกษาโดย Nikawa และคณะ¹⁷ การศึกษาดังกล่าวใช้วิธีการประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน มีทั้งการศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งหรือกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (minimal inhibitory หรือ minimal bactericidal concentration) ของสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก¹² หรือทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อรา (fungicidal)^{13,15} การย่อยสลายแคนดิดา (candida-lytic)^{13,15} หรือการกำจัดแคนดิดาจากเรซินอะคริลิก^{13,16} การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมชนิดต่าง ๆ ในการลดการเจริญของแผ่นชีวภาพ (biofilm activity) ของแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้มีการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นโดยใช้การวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากแช่แผ่นเรซินอะคริลิกที่มีแผ่นชีวภาพแคนดิดาในสารทำความสะอาดฟันปลอม 11 ชนิดนาน 2 ชั่วโมง พบว่าประสิทธิภาพในการลดการเจริญของแผ่นชีวภาพแคนดิดาขึ้นกับองค์ประกอบของสารทำความสะอาดฟันปลอมและพบว่าสารทำความสะอาดฟันปลอมประเภทเปอร์ออกไซด์และน้ำยาฆ่าเชื้อ มีฤทธิ์ในการลดการเจริญของแผ่นชีวภาพแคนดิดามากกว่าผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น¹⁵ ส่วนการศึกษาฤทธิ์ของเอนไซม์ที่เป็นส่วนประกอบหนึ่งของสารทำความสะอาดฟันปลอมในการฆ่าเชื้อรา พบว่าสารทำความสะอาดฟันปลอมที่มีและไม่มีเอนไซม์สามารถลดการเจริญของเชื้อราแคนดิดาที่เกาะอยู่บนเรซินอะคริลิกได้อย่างไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อราของโพลีเดนทสูตรที่มีและไม่มีเอนไซม์พบว่าโพลีเดนทที่มีเอนไซม์มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อราน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้ผู้วิจัยสรุปว่าผลในการฆ่าเชื้อราของสารทำความสะอาด

อาดฟันปลอมขึ้นอยู่กับอัลคาไลน์เปอร์ออกไซด์มากกว่าเอนไซม์¹³ การศึกษาในผู้ป่วยที่อยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน⁹ พบว่าการแช่ฟันปลอมด้วยโพลีเดนทีนนาน 1 อาทิตย์จะสามารถลดจำนวนเชื้อราแคนดิดาได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ประสิทธิภาพในการลดเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาโดย Drake และคณะกลับให้ผลไม่สอดคล้องกัน โดยพบว่าโพลีเดนทีนสามารถกำจัดเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพแต่ไม่มีผลในการลดการเกาะยึดของเชื้อราแคนดิดาได้¹⁸

จะเห็นว่าการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมในการกำจัดเชื้อราแคนดิดายังให้ผลไม่สอดคล้องกัน ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการทดลองและการวัดผลที่ต่างกันไม่ว่าจะเป็นชนิดของสารเคมีทำความสะอาดฟันปลอม ระยะเวลาในการแช่สารเคมี หรือระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อราให้เกาะบนแผ่นเรซินอะคริลิก

โพลีเดนทีนเป็นสารเคมีทำความสะอาดฟันปลอมชนิดเดียวที่มีจำหน่ายในเมืองไทยและมักได้รับการแนะนำให้ผู้ป่วยได้ใช้ในการทำความสะอาดฟันปลอม อย่างไรก็ตาม เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมชนิดนี้มีราคาค่อนข้างแพง การศึกษาประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมชนิดนี้ในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาในห้องปฏิบัติการ จะเป็นประโยชน์ประกอบการตัดสินใจของทันตแพทย์ไทยในการแนะนำผู้ป่วย รวมทั้งเป็นการให้ข้อมูลที่จำเป็นแก่ผู้ป่วยเพื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่าในการตัดสินใจเลือกใช้เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอม การวิจัยนี้มีได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อเอื้อประโยชน์ต่อบริษัทผู้ผลิต แต่มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมชนิดเดียวที่มีจำหน่ายในประเทศไทยในการกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบทั้งผลของปริมาณเมื่อยาที่ใช้ และระยะเวลาที่แช่ต่อประสิทธิภาพดังกล่าวด้วย การทดสอบประสิทธิภาพดังกล่าวในห้องปฏิบัติการจะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อราเริ่มต้นและสภาวะแวดล้อมได้ดีกว่าการทดสอบในคนไข้จริงซึ่งมีความหลากหลายของปริมาณเชื้อและสภาพในช่องปากระหว่างบุคคล การทดสอบประสิทธิภาพของเมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมนี้กับแผ่นชีวภาพแคนดิดาที่เพาะเลี้ยงนาน 6 วัน ซึ่งมีการเจริญเติบโตรวมกันเป็นกลุ่มและต้านทานต่อยาได้มากกว่าเป็นวิธีการทดสอบประสิทธิภาพของยาต่อเชื้อราที่มีลักษณะใกล้เคียงกับที่พบได้ฐานฟันปลอมซึ่งมีได้อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว นอกจากนี้หากพบว่าการลดปริมาณเมื่อยาและเพิ่มระยะเวลาการแช่นานขึ้นทำให้

ประสิทธิภาพดังกล่าวใกล้เคียงกับเมื่อใช้ตามขนาดที่แนะนำไว้โดยบริษัท ทันตแพทย์และผู้ใช้ฟันปลอมอาจนำผลการทดลองมาพิจารณาปรับลดปริมาณการใช้เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมดังกล่าว ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายได้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เชื้อจุลชีพ

เชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่ใช้ในการทดลองคือเชื้อราสายพันธุ์ DMST 21424 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

2. การเพาะเลี้ยงเชื้อรา

ก่อนนำเชื้อรามาทำการทดลอง เชื้อราที่ถูกแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จะถูกนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา (Sabouraud Dextrose Broth; SDB) (Laboratories Britania, Buenos Aires, Argentina) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้วิธีการแกว่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเร็วประมาณ 130 รอบ/นาที อย่างต่อเนื่องในตู้บ่มสั่น (incubator shaker) (New Brunswick Scientific Inc, UK) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อราที่เพาะเลี้ยงได้จะถูกนับด้วยเครื่องฮีโมไซโตมิเตอร์ (haemocytometer) และปรับความเข้มข้นของเชื้อราให้ได้ตามที่ต้องการ

3. เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอม

เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมที่ใช้ทดสอบคือ เมื่อยาทำความสะอาดฟันปลอมโพลีเดนทีนชนิด 5 นาที (Polident® 5 minute denture cleanser) (Glaxosmith-kline, Thailand) การแบ่งเมื่อยาจะใช้มีดหั่นเนื้อค่อยๆ เลื่อยแบ่งเมื่อยาที่วางอยู่ในช่องรูปวงกลมขนาดเท่ากับเมื่อยาให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ

4. การเตรียมแผ่นเรซินอะคริลิก

แผ่นเรซินอะคริลิกขนาด 10x10x2 มิลลิเมตร ตามวิธีการมาตรฐานของการบ่มเรซินอะคริลิกด้วยความร้อน แผ่นเรซินอะคริลิกขนาดดังกล่าวจะถูกขัดแต่งให้เรียบเป็นเงาแล้วจึงนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 คืนเพื่อทำให้ปราศจากเชื้อ ทั้งไว้ให้แห้งก่อนนำไปใช้ทดลอง วิธีนี้ดัดแปลงจากการทดลองโดย He และคณะ¹⁹ การปราศจากเชื้อราของแผ่นเรซินอะคริลิกได้รับการทดสอบโดยการแช่แผ่นเรซินอะคริลิก 1 แผ่นในแต่ละการทดลองไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา เพาะเลี้ยงในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน ตามระยะเวลาของการสร้างแผ่นชีวภาพ

และทำการส่องดูการปนเปื้อนเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (inverted microscope) (Nikon, Japan)

5. การสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก

ใช้วิธีการเดียวกับของ Nikawa และคณะ¹⁵ โดยวางแผ่นเรซินอะคริลิกขนาด 10x10x2 มิลลิเมตร ในแต่ละหลุมของเพลทเลี้ยงเซลล์ที่มี 24 หลุม (24 multiwell tissue culture plate) (Corning Incorporated, NY, USA) เติมเซรุ่มมนุษย์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร (ความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ) นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อ (incubator) (Mettler, Becthai Co., LTD, Thailand) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนที่เซรุ่มจะถูกดูดทิ้งไป แล้วจึงหยดเชื้อราจำนวน 1×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตรบนแผ่นเรซินอะคริลิกนั้น และเพาะเลี้ยงในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อราเกาะยึดและเกาะกลุ่มที่แผ่นเรซินอะคริลิก จากนั้นจึงเติมอาหารเลี้ยงเชื้อราปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลุม และนำเพลทเข้าอบในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน เพื่อให้เกิดเป็นแผ่นชีวภาพแคนดิดา โดยตลอดระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงแผ่นชีวภาพแคนดิดาจะมีการตรวจสอบการปนเปื้อนด้วยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับทุกวัน

6. การทดสอบประสิทธิภาพของโพลิเดนทในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนเรซินอะคริลิก

แผ่นเรซินอะคริลิกที่มีแผ่นชีวภาพแคนดิดาซึ่งเพาะเลี้ยงไว้แล้ว 6 วัน จะถูกใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบประสิทธิภาพของโพลิเดนทต่อการลดจำนวนเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก โดยการทดลองในแต่ละกลุ่มจะทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 10 ชิ้น และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีกลุ่มควบคุมคือกลุ่มตัวอย่างที่แช่ในน้ำกลั่น การทดสอบจะแบ่งเป็น 2 การทดลองหลักคือ

6.1 ผลของปริมาณยาที่ใช้ต่อประสิทธิภาพของโพลิเดนทในการลดจำนวนเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก

ตามข้อแนะนำวิธีการใช้เม็ดยาโพลิเดนทที่บริษัทให้ไว้ คือใช้เม็ดยา 1 เม็ดใส่ลงในน้ำสะอาดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่แช่ฟันทอมไว้และแช่นาน 5 นาที ก่อนที่จะนำฟันทอมไปล้างด้วยน้ำสะอาด ดังนั้นจึงแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มที่แช่เม็ดยา 1, 0.75, 0.5 และ 0.25 เม็ด โดยแช่นาน 5 นาทีในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง

6.2 ผลของระยะเวลาที่แช่ต่อประสิทธิภาพของโพลิเดนทในการลดจำนวนเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก

หลังจากทดสอบพบว่าโพลิเดนทที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกแล้ว จึงทำการศึกษาว่าระยะเวลาที่ใช้แช่นานขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพของเม็ดยาเพิ่มขึ้นหรือไม่ จึงแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 2 กลุ่มย่อย คือกลุ่มที่ใช้เม็ดยา 1 เม็ดในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง และแช่นาน 3, 5, 7, 9 และ 11 นาที ส่วนอีกกลุ่มจะใช้เม็ดยา 0.5 เม็ด โดยแช่นาน 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง

7. การวัดปริมาณเชื้อราที่เหลืออยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิก

การวัดปริมาณเชื้อราที่เหลืออยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิกตามวิธีการของ Nikawa²⁰ โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำแผ่นเรซินอะคริลิกที่ผ่านการทดลองแล้วใส่ในหลอดทดลองใหม่ที่มีน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate-Buffered Saline; PBS) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดทดลองไปสั่นกับเครื่องสั่นผสม (vortex mixer) (Scientific Industries Inc., NY, USA) เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เชื้อราที่ยังคงเกาะหลวม (non firmly attached) อยู่ที่แผ่นเรซินอะคริลิกหลุดออกมาอยู่ในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แผ่นเรซินอะคริลิกที่ผ่านการเขย่าแล้วถูกนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับเพื่อตรวจสอบว่าเชื้อราหลุดออกมาจริง จากนั้นล้างเซลล์ในหลอดทดลองโดยการปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) ที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เชื้อราตกตะกอน กำจัดสารละลายส่วนใสออก เติมน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเซลล์ที่ตกตะกอนด้วยเครื่องสั่นผสม ก่อนที่จะนำไปวัดค่าความขุ่น

8. การวัดจำนวนเชื้อราด้วยการวัดค่าความขุ่น

เนื่องจากได้มีการทดลองพบว่าจำนวนเชื้อรามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับค่าความขุ่นซึ่งวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) (Shimadzu, Japan) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้ในที่นี้) โดยความสัมพันธ์ดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้เป็นวิธีการประมาณค่าจำนวนเชื้อราที่ใช้กันทั่วไป²¹ ดังนั้นปริมาณเชื้อราแคนดิดาที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา ในการทดลองนี้จึงถูกประมาณด้วยการวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้ค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อราเป็นค่าพื้นฐาน

9. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

9.1 การหาปริมาณเชื้อที่เหลืออยู่บนเรซินอะคริลิก หลังจากการแช่โพลิเดนทในสภาวะต่าง ๆ

ในการวิจัยครั้งนี้ จะนำค่าความขุ่นที่ได้จากกลุ่มทดลอง (OD_{test}) มาเปรียบเทียบกับค่าความขุ่นที่ได้จากกลุ่มควบคุม ($OD_{control}$) และคำนวณเป็นร้อยละของการลดลงของจำนวนเชื้อรา (percentage of *C.albicans* reduction) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{Percentage of } C.albicans \text{ reduction} = \frac{(OD_{control} - OD_{test})}{OD_{test}} \times 100$$

9.2 การทดสอบความแตกต่างทางสถิติใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวโดยใช้โปรแกรมกราฟแพดปริซึม (GraphPad Prism) และใช้การเปรียบเทียบพหุคูณของทูเกีย (Tukey's multiple comparisons test) เพื่อหาความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละคู่หลังจากพบว่าการทดสอบทุกกลุ่มข้อมูลมีความแตกต่างทางสถิติ

ผล

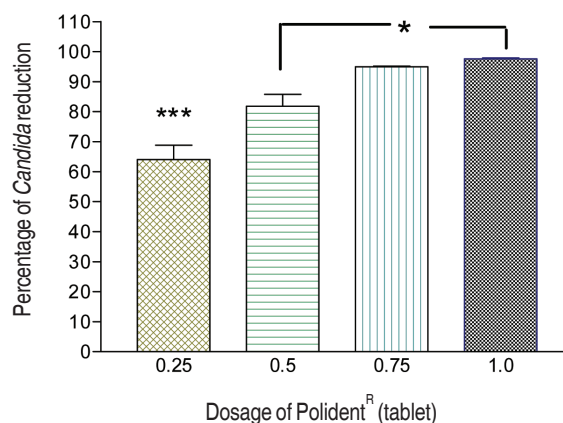
1. ผลของปริมาณเม็ดยาต่อประสิทธิภาพของโพลีเดนทในการกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก

จากกราฟที่ 1 แสดงให้เห็นว่าปริมาณยาที่ใช้ในทุกกลุ่มการทดลองสามารถกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกได้

ร้อยละการลดลงของเชื้อราในแต่ละกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .001$) โดยประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกของโพลีเดนทแปรผันตรงกับปริมาณเม็ดยาที่ใช้แช่ในน้ำกลั่น เมื่อแช่แผ่นเรซินอะคริลิกในสารละลายโพลีเดนท 1 เม็ด เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกได้ร้อยละ 97 ซึ่งประสิทธิภาพดังกล่าวไม่แตกต่างจากการแช่แผ่นเรซินอะคริลิกในสารละลายที่มีเม็ดยาปริมาณ 0.75 เม็ด นาน 5 นาที อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการลดการยึดเกาะของแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนเรซินอะคริลิกมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อแช่ในสารละลายที่มีเม็ดยาปริมาณ 0.5 และ 0.25 เม็ด นาน 5 นาที ($p < .05$) โดยประสิทธิภาพดังกล่าวมีค่าน้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 65 เมื่อแช่ในสารละลายที่มีเม็ดยาปริมาณ 0.25 เม็ด นาน 5 นาที ($p < .001$)

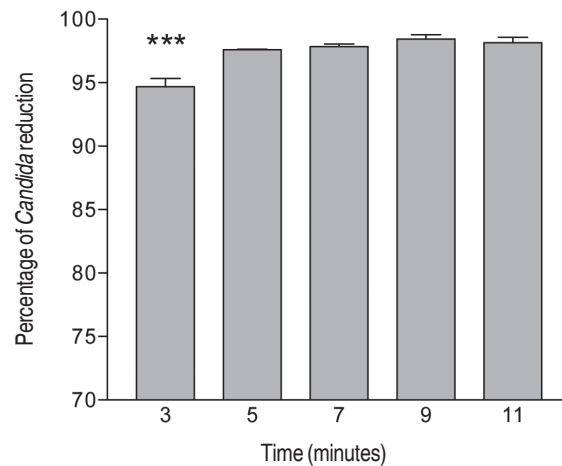
2. ผลของระยะเวลาที่ใช้แช่ต่อประสิทธิภาพของโพลีเดนทในการกำจัดแผ่นชีวภาพเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิก

การแช่แผ่นเรซินอะคริลิกในสารละลายที่มีเม็ดยาโพลีเดนทนานกว่า 5 นาทีไม่ทำให้อัตราการลดลงของแผ่นชีวภาพแคนดิดา อัลบิแคนส์เพิ่มขึ้น จากกราฟที่ 2 แสดงค่าร้อยละการลดลงของแคนดิดา อัลบิแคนส์เมื่อแช่ในสารละลายที่มีเม็ดยาโพลีเดนทปริมาณ 1 เม็ด จะพบว่าการแช่แผ่นเรซินอะคริลิกนาน 3 นาที ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราลดลงเมื่อเปรียบเทียบ



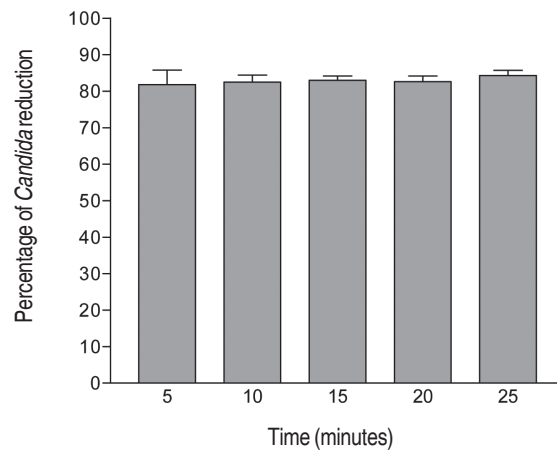
กราฟที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกเมื่อถูกแช่ด้วยผลิตภัณฑ์โพลีเดนทปริมาณต่าง ๆ กันนาน 5 นาที เออร์เรอร์บาร์ (error bar) ในแต่ละแท่งแทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) จากค่าเฉลี่ยสามการทดลองซ้ำ จำนวนทั้งสิ้น 30 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง (*แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ $p < .05$, ***แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ $p < .001$)

Graph 1 Mean of percentage of *Candida albicans* reduction when acrylic resins were immersed with different dosage of Polident for 5 minutes. Error bars represent standard deviation from the triplicate experiments, 30 samples each group. (*shows statistical difference at $p < .05$, ***shows statistical difference at $p < .001$)



กราฟที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกเมื่อถูกแช่ด้วยผลิตภัณฑ์โพลิเดนท จำนวน 1 เม็ด โดยใช้เวลาแช่ที่ต่างกัน เออเอร์บาร์ (error bar) ในแต่ละแท่งแทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) จากค่าเฉลี่ยสามการทดลองซ้ำ จำนวนทั้งสิ้น 30 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง (***)แสดงกลุ่มที่มีความแตกต่างทางสถิติ $p < .001$)

Graph 2 Mean of percentage of *Candida albicans* reduction when acrylic resins were immersed with 1 tablet of Polident for several immersion times. Error bars represent standard deviation from the triplicate experiments, 30 samples each group. (***)shows statistical difference at $p < .001$)



กราฟที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกเมื่อถูกแช่ด้วยผลิตภัณฑ์โพลิเดนท จำนวน 0.5 เม็ดโดยใช้เวลาแช่ที่ต่างกัน เออเอร์บาร์ (error bar) ในแต่ละแท่งแทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) จากค่าเฉลี่ยสามการทดลองซ้ำ จำนวนทั้งสิ้น 30 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง การวิเคราะห์ทางสถิติ ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง

Graph 3 Mean of percentage of *Candida albicans* reduction when acrylic resins were immersed with 0.5 tablet of Polident for several immersion times. Error bars represent standard deviation from the triplicate experiments, 30 samples each group. There was no statistical difference.

กับการแช่นาน 5 นาที ($p < .01$) แต่การแช่แผ่นเรซินอะคริลิกในสารละลายที่มีเมดิยาโพลีเดนทรีปริมาณ 1 เม็ด นานกว่า 5 นาที ไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกได้ ในแนวทางเดียวกัน การเพิ่มระยะเวลาการแช่แผ่นเรซินอะคริลิกในสารละลายที่มีเมดิยาโพลีเดนทรีปริมาณ 0.5 เม็ด ไม่ทำให้ร้อยละการลดลงของเชื้อราเพิ่มขึ้น (กราฟที่ 3)

บทวิจารณ์

ในอดีต เราคิดว่าการทำความสะอาดฟันปลอมเพียงเพื่อกำจัดคราบสีหรือเศษอาหารที่เกาะอยู่บนฟันปลอมเท่านั้น แต่จากความรู้ในปัจจุบันที่พบว่าการรวมกลุ่มของจุลชีพเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมนั้น อาจเป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดโรคปากอักเสบเหตุฟันปลอมได้ ทำให้วิธีการทำความสะอาดฟันปลอมที่มีประสิทธิภาพนั้นต้องสามารถกำจัดแผ่นคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมได้ด้วย ดังนั้นสารทำความสะอาดฟันปลอมที่ดีจึงควรมีประสิทธิภาพในการขจัดคราบสี คราบมูก และอินทรีย์สารต่าง ๆ รวมทั้งควรมีสมบัติในการกำจัดแบคทีเรียและเชื้อราได้โดยไม่ทำให้วัสดุที่เป็นส่วนประกอบของฟันปลอมเสื่อมสภาพหรือมีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป เช่น การกัดกร่อนโลหะ หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของเรซินอะคริลิก สารทำความสะอาดฟันปลอมที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้คือ โพลีเดนทรีชนิดแช่ 5 นาที ซึ่งในใบกำกับสินค้ามีคำชี้แจงคุณสมบัติว่าสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกลิ่นได้ร้อยละ 99 โดยการแช่ฟันปลอมในน้ำสะอาดปริมาตร 200 มิลลิลิตรที่มีเมดิยา 1 เม็ดอยู่และแช่เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำฟันปลอมมาล้างน้ำสะอาด ดังนั้น การทดลองในครั้งนี้จึงใช้ปริมาณเมดิยาและระยะเวลาที่แช่ที่กำหนดโดยบริษัทเป็นวิธีการทดลองพื้นฐานก่อน แล้วจึงทดสอบผลของการลดปริมาณเมดิยาและการเปลี่ยนแปลงระยะเวลาที่ใช้แช่ต่อประสิทธิภาพในการลดจำนวนแผ่นชีวภาพของเชื้อราแคนดิดาบนพื้นผิวของแผ่นเรซินอะคริลิก

การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลชีพบนฟันปลอมของสารทำความสะอาดฟันปลอมในทางคลินิกนั้นมีความยุ่งยากซับซ้อนเนื่องจากผลการทดลองที่ได้อาจมีความแปรปรวนในแต่ละการทดลอง เนื่องจากความแตกต่างที่เกิดขึ้นระหว่างผู้ป่วย เช่น สุขภาพของผู้ป่วย อุณหภูมิร่างกาย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในช่องปากก่อนการทดลอง การสร้างแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนพื้นผิวของแผ่นเรซินอะคริลิกในห้องปฏิบัติการที่มีความใกล้เคียงกับลักษณะที่เกิดขึ้นในคลินิกนั้นได้มีการพัฒนาโดย Nikawa และคณะ²² ซึ่งพบว่าเชื้อราแคนดิดาจะรวมกลุ่มได้บนแผ่นเรซิน-

อะคริลิกที่มีเชรุ่มเคลือบอยู่มากกว่าบนแผ่นเรซินอะคริลิกที่มีน้ำลายเคลือบอยู่ โดยมีโปรตีนในเชรุ่มเป็นตัวช่วยให้เกิดลักษณะการรวมกลุ่มเป็นแผ่นชีวภาพบนพื้นปลอม เมื่อใช้เวลาในการเพาะเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิกที่มีเชรุ่มเคลือบอยู่เป็นเวลา 4-5 วัน จะปรากฏว่าบลาสโตสปอร์ (blastospore) และเส้นใยของเชื้อรา (hyphae) มีการเพิ่มจำนวนขึ้นและจะเป็นช่วงที่มีการเจริญสูงสุดแล้วจะคงที่ รูปแบบการเกิดแผ่นชีวภาพของเชื้อราที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นเรซินอะคริลิกในห้องปฏิบัติการที่กล่าวมานี้มีลักษณะที่ใกล้เคียงอย่างมากกับลักษณะการเกิดแผ่นคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอมที่เกิดขึ้นในช่องปากซึ่งมีทั้งบลาสโตสปอร์และเส้นใยของเชื้อรา¹⁵ การก่อตัวเต็มที่ของคราบจุลินทรีย์ที่เกาะกับฟันปลอมในช่องปากใช้ระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยเริ่มจากการเกาะยึดของเชื้อราแล้วรวมกลุ่มกันเป็นเซลล์หลาย ๆ ชั้นจนการเป็นคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอม ดังนั้นการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราบนฟันปลอมของสารทำความสะอาดฟันปลอมในห้องปฏิบัติการในการวิจัยนี้จึงใช้วิธีการของ Nikawa และคณะ

จากผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์โพลีเดนทรีจำนวน 1 เม็ด แช่นาน 5 นาที สามารถลดจำนวนแผ่นชีวภาพแคนดิดาลงได้ร้อยละ 97 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อลดปริมาณเมดิยาเป็น 0.5 และ 0.25 เม็ด ประสิทธิภาพดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาระหว่างไฮเดียมไบคาร์บอเนตและกรดซิตริกที่เป็นองค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิดปรากฏการณ์ฟองสบู่ (effervescence effect) การรวมตัวกันของออกซิเจนเกิดฟองออกซิเจนไปกระทบแผ่นเรซินอะคริลิกที่มีแผ่นชีวภาพแคนดิดาเกาะติดอยู่ ทำให้การยึดเกาะของแผ่นชีวภาพแคนดิดาหลวมและหลุดออกจากพื้นผิว ส่วนไฮเดียมโพลีฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์จะช่วยชะล้างสิ่งที่ถูกย่อยสลายให้หลุดจากพื้นผิว โดยมีการรายงานว่าการใช้โพลีเดนทรีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างมากและเกิดออกซิเจนความเข้มข้นสูงขึ้น และสรุปว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นออกซิเจน²³ นอกจากนี้ ยังอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิไดเซชัน (oxidization) ระหว่างสารเปอร์ออกไซด์กับเอนไซม์ในเซลล์ของจุลชีพที่เกาะติดอยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิก ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาการปล่อยสารอนุมูลอิสระ (free radicals) ออกมาทำลายเซลล์ของจุลชีพ

ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์โพลีเดนทรีในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนแผ่นเรซินอะคริลิกที่แสดงผลไว้ในการวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาโดย Nikawa ในปี พ.ศ. 2538¹⁵ ซึ่ง

ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดการเจริญของแผ่นชีวภาพแคนดิดาของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดฟันปลอมจำนวน 11 ชนิดเมื่อแช่นาน 2 ชั่วโมง โดยใช้การวัดการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นโปรตีนต่างในการประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์และได้รายงานไว้ถึงแม้โพลิเดนทที่มีฤทธิ์ในการย่อยสลายเชื้อรา (*Candida-lytic*) น้อยเมื่อแช่ร่วมกับเซลล์เชื้อราที่เป็นเซลล์เดี่ยวในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ผลิตภัณฑ์โพลิเดนทที่มีประสิทธิภาพในการลดการเจริญของแผ่นชีวภาพแคนดิดา (*Candida* biofilm activity) บนเรซินอะคริลิก ผลการวิจัยนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Nakamoto และคณะในปี พ.ศ. 2534¹³ ซึ่งสร้างแผ่นชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกนานเพียง 90 นาทีและแช่แผ่นเรซินอะคริลิกที่มีเชื้อราในโพลิเดนทนาน 60 นาทีตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วล้างด้วยน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ก่อนที่จะนำไปย้อมด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) เพื่อยับยั้งเซลล์ที่ยึดติดอยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิกโดยมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ การทดลองของ Nakamoto พบว่าโพลิเดนทที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนเรซินอะคริลิก โดยพบว่าเมื่อแช่ในโพลิเดนททำให้มีเชื้อราเหลืออยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิกเพียงร้อยละ 2 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่แช่ด้วยน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองครั้งนี้แตกต่างจากของ Drake และคณะ¹⁸ ซึ่งทดสอบประสิทธิภาพของโพลิเดนทในการลดจำนวนสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์บนแผ่นเรซินอะคริลิก โดยพบว่าโพลิเดนทที่ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราแคนดิดาได้ ความแตกต่างของผลการทดลองที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากวิธีการทดลองที่ต่างกัน โดย Drake สร้างแผ่นชีวภาพบนเรซินอะคริลิกที่ไม่ได้เคลือบหรือเคลือบด้วยน้ำลายและเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลาเพียง 72 ชั่วโมง และทำการทดลองที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

การเคลือบแผ่นเรซินอะคริลิกด้วยเซรามิกในการศึกษาทางห้องปฏิบัติการนี้อาจไม่เหมือนกับสภาพความเป็นจริงในช่องปากซึ่งฟันปลอมจะถูกเคลือบด้วยน้ำลายมากกว่า จากผลการศึกษาที่รายงานว่าเชื้อราแคนดิดารวมกลุ่มเกาะกันได้น้อยกว่าบนแผ่นเรซินอะคริลิกที่มีน้ำลายเคลือบอยู่²⁰ จึงเป็นไปได้ว่าแผ่นชีวภาพเชื้อราที่ฐานฟันปลอมของคนไข้จะเกาะกันไม่แน่นเท่ากับแผ่นชีวภาพที่สร้างขึ้นในห้องปฏิบัติการซึ่งเคลือบด้วยเซรามิกมนุษย์ และน่าจะถูกกำจัดได้ง่ายกว่า ดังนั้น เม็ดยาโพลิเดนทจึงอาจมีประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาที่ฟันปลอมที่ถูกเคลือบด้วยน้ำลายได้มากกว่าที่ได้แสดงไว้ในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้ผลการทดลองที่พบว่าประสิทธิภาพของเม็ดยาโพลิเดนทที่ขนาด 0.75 เม็ดไม่แตกต่างจากการแช่ด้วยเม็ดยา 1 เม็ด และการ

ใช้เม็ดยาเพียง 0.5 เม็ดยังสามารถกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาได้มากกว่าร้อยละ 80 ดังนั้นหากได้มีการทำความสะอาดฟันปลอมด้วยการแปรงร่วมด้วยก่อนแช่ด้วยเม็ดยา การลดปริมาณการใช้เม็ดยาโพลิเดนทเหลือเพียง 0.5-0.75 เม็ดต่อน้ำ 200 ซีซี อาจจะยังทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาของเม็ดยาอยู่ในระดับที่ยอมรับได้

จากการทดลองที่พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาของโพลิเดนทที่ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อแช่แผ่นเรซินอะคริลิกนานขึ้น อาจเป็นผลมาจากการเกิดฟองออกซิเจนของเม็ดยาจะหายไปอย่างรวดเร็วในเวลาประมาณ 2-3 นาทีเมื่อใช้ในขนาดครึ่งเม็ด ทำให้ร้อยละการลดลงของแผ่นชีวภาพแคนดิดาไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อแช่นานกว่า 3 นาที อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์บนฟันปลอมนอกจากจะเกิดจากปฏิกิริยาของฟองออกซิเจนที่ทำให้เซลล์หลุดออกจากพื้นผิวได้แล้วนั้น อาจเกิดจากกลไกการทำงานอื่นๆ ขององค์ประกอบที่เป็นสารเคมีหรือเอนไซม์ได้ เช่น การฆ่าจุลินทรีย์ (germicide effect) การย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา (bacterio- or *Candida*-lytic effect) การลดการผลิตสารบางชนิดโดยเซลล์ การทำลายการยึดเกาะระหว่างเซลล์ (intercellular adherence) วิธีการประเมินจำนวนเซลล์ที่เหลืออยู่บนแผ่นเรซินอะคริลิกในการวิจัยนี้ใช้การเขย่าแผ่นเรซินอะคริลิกอย่างแรงเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เซลล์ที่เหลืออยู่หลุดออกจากแผ่นเรซินอะคริลิก อย่างไรก็ตาม อาจมีเชื้อราที่ยึดแน่น (firmly attached) หรือรุกราน (invade) เข้าไปในแผ่นเรซินอะคริลิกที่ไม่หลุดออกมาและหลงเหลืออยู่ได้ ซึ่งเชื้อราเหล่านี้ อาจเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นมาใหม่ได้ ดังนั้นการประเมินประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดฟันปลอมอาจต้องประเมินการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากแช่ผลิตภัณฑ์เพื่อดูว่าเป็นเซลล์ที่สามารถเจริญเติบโต (viable cell) หรือไม่ นอกจากนี้การวิจัยในเรื่องกลไกการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ต่อการเกาะยึดหรือรุกราน และการเพิ่มจำนวนเชื้อราบนแผ่นเรซินอะคริลิกควรมีการศึกษาวิจัยต่อไป การทดลองในลักษณะที่มีความใกล้เคียงกับลักษณะที่เกิดขึ้นจริงในช่องปากจะเป็นประโยชน์มากขึ้น เช่น การทดสอบกับแผ่นชีวภาพที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ด้วยกัน หรือใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บมาจากช่องปากของผู้ป่วยจริง เป็นต้น

ถึงแม้ว่าผลการวิจัยนี้และจากรายงานฉบับอื่นจะแสดงให้เห็นว่าโพลิเดนทที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราแคนดิดาบนแผ่นเรซินอะคริลิกและมีประสิทธิภาพในการป้องกันการรุกรานของแคนดิดา อัลบิแคนส์และการก่อตัวของคราบจุลินทรีย์บนฟันปลอม¹⁷ การใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดฟันปลอมเป็นประจำทุกวันอาจทำให้คุณสมบัติของวัสดุที่เป็นส่วนประกอบของฟันปลอม

มีการเสื่อมสภาพได้²⁴ การศึกษาโดย Nikawa และคณะ²⁵ ยังแสดงให้เห็นว่าเรซินอะคริลิกที่แช่ในโพลีเดนที่วันละ 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 180 วันจะเกิดแผ่นชีวภาพแคนดิดาได้มากกว่ากลุ่มที่แช่ด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบว่าการผสมผสานระหว่างชนิดของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดฟันปลอมและชนิดของวัสดุรองพื้นฟันปลอม (lining material) มีผลอย่างมากต่อการกระตุ้นให้เกิดการรวมตัวเป็นแผ่นชีวภาพแคนดิดา²⁵ และจากการศึกษาที่พบว่าโพลีเดนที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาที่เพาะเลี้ยงนาน 6 วันได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงแนะนำว่าไม่ควรแช่ฟันปลอมด้วยเม็ดยาโพลีเดนที่เป็นประจำทุกวันแต่อาจแช่เพียงอาทิตย์ละ 1 ครั้ง

บทสรุป

การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนแผ่นเรซินอะคริลิกของโพลีเดนที่ขึ้นกับปริมาณของเม็ดยาโพลีเดนที่ใช้ โดยประสิทธิภาพดังกล่าวไม่เพิ่มขึ้นเมื่อแช่นานกว่า 5 นาที ประสิทธิภาพการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดาบนฟันปลอมของโพลีเดนที่มีค่าสูงสุดเมื่อแช่เรซินอะคริลิกในสารละลาย 0.75-1 เม็ดยาเป็นเวลา 5 นาที ถึงแม้ว่าบริษัทผู้ผลิตจะกล่าวว่ายสามารถแช่ฟันปลอมในสารละลายโพลีเดนที่ทิ้งไว้ค้างคืนได้ก็ตาม แต่จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่า ประสิทธิภาพในการลดปริมาณคราบจุลินทรีย์บนแผ่นเรซินอะคริลิกไม่เพิ่มขึ้นเมื่อแช่นานกว่า 5 นาที การใช้เม็ดยาแช่ฟันปลอมทุกวันอาจทำให้มีการเสื่อมสภาพและเกิดแผ่นชีวภาพที่เรซินอะคริลิกมากขึ้นได้ ผู้วิจัยจึงแนะนำว่าไม่ควรแช่ฟันปลอมในสารละลายโพลีเดนที่นานมากกว่า 5 นาที เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการกำจัดแผ่นชีวภาพแคนดิดามีค่ามากที่สุดโดยไม่มีผลต่อเนื่องตามมา โดยอาจสามารถปรับลดปริมาณเม็ดยาที่แช่เป็น 0.5-0.75 เม็ดได้ หากต้องการลดค่าใช้จ่าย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์สำหรับเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ DMST 21424 บริษัท Glaxosmith-kline (Thailand) จำกัด ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ผลิตภัณฑ์ยา Polident® 5 minute denture cleanser คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา และห้องปฏิบัติการ

เทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ที่ให้ความอนุเคราะห์เซรัมของผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil* 1987;14:217-27.
2. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials *in vivo* and *in vitro*. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:99-116.
3. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis. *J Dent Res* 1995;74:1152-61.
4. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque - past and recent concerns. *J Dent* 1998;26:299-304.
5. Dills SS, Olshan AM, Goldner S, Brogdon C. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical soak denture cleaners. *J Prosthet Dent* 1988;60:467-70.
6. Graham BS, Jones DW, Burke J, Thompson JP. *In vivo* presence and growth on two resilient denture liners. *J Prosthet Dent* 1991;65:528-532.
7. Allison RT, Douglas WH. Microcolonization of the denture-fitting surface by *Candida albicans*. *J Dent* 1973;1:198-201.
8. Harrison Z, Johnson A, Douglas CW. An *in vitro* study into the effect of a limited range of denture cleaners on surface roughness and removal of *Candida albicans* from conventional heat-cured acrylic resin denture base material. *J Oral Rehabil* 2004;31:460-467.
9. Gornitsky M, Paradis I, Landaverde G, Malo AM, Velly AM. A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. *J Can Dent Assoc* 2002;68:39-45.
10. Chan EC, Iugovaz I, Siboo R, Bilyk M, Barolet R, Amsel R, Wooley C, Klitorinos A. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. *J Can Dent Assoc* 1991;57:937-9.
11. Budtz-Jorgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent* 1979;42:619-23.
12. Minagi S, Tsunoda T, Yoshida K, Tsuru H. Objective testing of the efficiency of denture-cleansing agents. *J Prosthet Dent* 1987;58:595-8.
13. Nakamoto K, Tamamoto M, Hamada T. Evaluation of denture cleansers with and without enzymes against *Candida albicans*. *J Prosthet Dent* 1991;66:792-5.

14. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H. Commercial denture cleansers - cleansing efficacy against *Candida albicans* biofilm and compatibility with soft denture-lining materials. *Int J Prosthodont* 1995;8:434-44.
15. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Sadamori S, Agrawal S. Cleansing efficacy of commercial denture cleansers: ability to reduce *Candida albicans* biofilm activity. *Int J Prosthodont* 1995;8:527-34.
16. Tamamoto M, Hamada T, Miyake Y, Suginaka H. Ability of enzymes to remove *Candida*. *J Prosthet Dent* 1985;53:214-6.
17. Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of *in vitro* and *in vivo* methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int. J. Prosthodont*. 1999;12:153-9.
18. Drake D, Wells J, Ettinger R. Efficacy of denture cleansing agents in an *in vitro* bacteria-yeast colonization model. *Int J Prosthodont* 1992;5: 214-20.
19. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. *In vitro* adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses* 2006;49:80-4.
20. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T, Kumagai H. Effects of salivary or serum pellicles on the *Candida albicans* growth and biofilm formation on soft lining materials *in vitro*. *J Oral Rehabil* 1997;24:594-604.
21. Samaranayake YH, Ye J, Yau JY, Cheung BP, Samaranayake LP. *In vitro* method to study antifungal perfusion in *Candida* biofilms. *J Clin Microbiol* 2005;43:818-25.
22. Nikawa H, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T, Samaranayake LP. Interactions between denture lining material, protein pellicles and *Candida albicans*. *Arch Oral Biol* 1993;38:631-4.
23. Mueller HJ, Greener EH. Characterization of some denture cleansers. *J Prosthet Dent* 1980;43:491-6.
24. Nikawa H, Iwanaga H, Hamada T, Yuhta S. Effects of denture cleansers on direct soft denture lining materials. *J Proshthet Dent* 1994;72:657-62.
25. Nikawa H, Jin C, Makihiro S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2003;30:243-50.

Original Article

In vitro Efficacy of Polident in Reducing *Candida* Biofilm on Surface of Acrylic Resin

Siripen Wanasaengsakul

Assistant Professor
Faculty of Dentistry
Thammasat University

Piti Khongkhawithun

Dentist
Dental Clinic, Pathumtani Hospital
Pathumtani Province

Tapana Tienthong

Dentist
Dental Clinic, Srewirai Hospital
Nongkai Province

Correspondence to:

Assistant Professor Dr. Siripen Wanasaengsakul
Faculty of Dentistry
Thammasat University
99 Moo 18 Paholyothin Road
Klong Luang, Pathumtani 12121
Tel: 02-9869213 ext. 7149
E-mail: penwana@yahoo.com

Abstract

Candida biofilm on the surface of denture is a major causative agent of denture stomatitis. Several denture-cleaning methods, both mechanical and chemical, are used for the reduction of denture plaque and debris. However, it has been reported that mechanical cleaning methods are insufficient for a complete reduction of microorganisms on denture plates. Polident® is a commercial immersion type chemical solution generally employed in Thailand. Polident® is claimed as an efficient antibacterial agent. However, the antifungal effect against *Candida albicans*, known as an important microorganism related to denture stomatitis, is not specified by the company. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* cleaning efficacy of Polident® in the reduction of *Candida albicans* biofilm on the surface of acrylic resin, in relation to dosage and soaking time. *Candida albicans* was grown in Sabouraud dextrose broth for 24 hours. *Candida albicans* biofilm was established for 6 days on the surface of heat cured acrylic resin plate size 10x10X2 mm before the antifungal effect of Polident® was examined. Control group was *Candida* coated-acrylic resin treated with distilled water. Optical density (OD₅₂₀) was used for the quantitative measurement of the number of *Candida* remaining on the plate after immersion with Polident® for variation of time and dosage. OD₅₂₀ from test groups were compared to those of control groups and calculated as the percentage of *Candida* reduction using ANOVA. It was found that Polident® could significantly reduce the number of *Candida albicans* on the surface of acrylic resin ($p < .05$). The effectiveness of Polident® was positively correlated to the dosage being used. However, the longer immersion time could not increase the percentage of *Candida* reduction. In conclusion, the efficacy of Polident® against *Candida* biofilm on acrylic resin was dose-dependent.

Key words: *Candida albicans*; *Candida* biofilm; denture cleanser; denture stomatitis