บทที่ 4

บทวิจารณ์

ชิ้นตัวอย่างในการทดลองนี้เป็นพอลิเมทิลเมทาคริเลตชนิดบ่มด้วยความร้อนแบบไม่มีสี ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของวัสดุเป็นชนิดเดียวกับวัสดุที่ใช้ทำฐานฟันปลอมอะคริลิก แต่ไม่มีการ ใส่สีหรือเติมแต่งเลียนแบบลักษณะเหงือก ทำให้การดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนเชื้อ มีความชัดเจนมากกว่า สำหรับด้านที่ทำการทดลองของชิ้นตัวอย่างซึ่งไม่มีการขัดแต่งเปรียบ- เสมือนด้านสัมผัสเนื้อเยื่อของฟันปลอม ซึ่งได้จากการลงเบ้าหล่อแบบเพื่อบ่มด้วยความร้อนและไม่ได้รับการขัดแต่งเช่นกัน ในส่วนของวัสดุเคลือบผิวทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดลองนี้มีความแตกต่างกันในระบบการบ่มตัว Monopoly เป็นสารเคลือบเมทิลเมทาคริเลตชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนและปฏิกริยาเคมี สามารถเตรียมได้ง่าย ราคาถูก และวิธีการใช้ไม่ยุ่งยาก [Gardner and Parr, 1988] ส่วน Palaseal® เป็นสารเคลือบพอลิเมทิลเมทาคริเลตชนิดบ่มตัวด้วยแสง ซึ่งมีผู้แนะนำให้ใช้เคลือบบนด้านสัมผัสเนื้อเยื่อของเครื่องมือจัดฟันแบบถอดได้ เพื่อลดการสะสมของคราบจุลินทรีย์ [Mantzikos and Epstein, 1998] มอนอเมอร์ที่เหลือจากปฏิกิริยา การเกิดพอลิเมอร์ของวัสดุชนิดนี้มีน้อย [Vallittu, 1996] แต่วัสดุมีราคาแพงและต้องใช้เครื่องฉายแสงเฉพาะในการบ่ม สำหรับ Glaze® เป็นสารเคลือบพอลิเมทิลเมทาคริเลตชนิดบ่มเอง จึงไม่จำเป็นต้องใช้โคมไฟหรือเครื่องฉายแสงในการบ่มตัว วัสดุมีราคาใกล้เคียงกับ Palaseal® อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการศึกษาที่เกี่ยวกับวัสดุชนิดนี้

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ซึ่งกำหนดให้ตัวอย่างมีเวลาในการสัมผัสเชื้อเพียง 1 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการยึดเกาะระยะแรกของเชื้อ โดยไม่มีปัจจัยอื่นรบกวน ซึ่งน่าจะนำไปสู่ผลโดยตรงของสารเคลือบผิวต่อการยึดเกาะของเชื้อ *C. albicans* นอกจากนี้ ตัวอย่าง จะถูกเก็บในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อและไม่มีการรบกวนชิ้นงานโดยการแปรง เพื่อป้องกันการเกิดไบโอฟิล์ม (biofilm) และกำจัดตัวแปรอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อผลการทดลอง ในการศึกษานี้ เลือกเก็บตัวอย่างในน้ำกลั่นแทนน้ำลายเทียม เนื่องจากในน้ำลายเทียมมีส่วนผสมของเซลลูโลสซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ที่สามารถเป็นแหล่งให้คาร์บอนและส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ได้ อย่างไรก็ตาม แม้จะพยายามควบคุมปัจจัยอื่นๆ ที่อาจส่งผลต่อการยึดเกาะของเชื้อ แต่ผลการทดลองที่ได้ยัง

มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ซึ่งในเบื้องต้นได้ตั้งสมมติฐานว่าการที่การยึดเกาะของเชื้อมีความแปรปรวนสูงนั้น อาจเกิดจากความแปรปรวนของชิ้นตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมขึ้นมา เพื่อสำรวจในเบื้องต้นว่า เชื้อ *Candida* ที่ใช้ในการศึกษานี้ จะแสดงพฤติกรรมเช่นเดียวกันหรือไม่ ต่อแผ่นพลาสติกสำเร็จรูปที่ไม่ต้องผ่านการเตรียม จึงทำการทดสอบการยึดเกาะของเชื้อดังกล่าว บนแผ่นพอลิสไตรีน ที่ใช้สำหรับทำถาดหลุมเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีจำนวนการยึดเกาะของเชื้อเท่ากับ 62±53.13 เซลล์/ตารางมิลลิเมตร ซึ่งจากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า การยึดเกาะของเชื้อยังคงมีความแปรปรวนสูง แม้จะทำการทดลองบนผิวพลาสติกสำเร็จรูป ดังนั้น ความแปรปรวนจากการเตรียมชิ้นตัวอย่าง อาจไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ทำให้เชื้อมีพฤติกรรมดังกล่าว สำหรับสาเหตุอื่นๆ ที่อาจเป็นไปได้ คือ การที่เชื้อมีคุณสมบัติในการยึดเกาะระหว่างเซลล์ (cell-cell adhesion) ทำให้เซลล์มีโอกาสจะเกาะกลุ่มกันตลอดเวลา ซึ่งอาจส่งผลให้การกระจายของเซลล์ในสารละลายไม่สม่ำเสมอ ทำให้การปิเปตสารละลายเชื้อในแต่ละครั้ง อาจจะมีจำนวนเชื้อที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ในการศึกษานี้ สารละลายเชื้อทั้งหมดจะถูกเขย่าตลอดเวลาด้วยเครื่องเขย่าแบบแบน และถูกแบ่งออกมาใส่หลอดเพื่อเขย่าด้วยเครื่องเขย่าหลอดก่อนจะทำการปิเปตทุกครั้ง อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ทำให้เกิดข้อสงสัยว่า วิธีการเขย่าในการทดลองนี้เพียงพอหรือไม่ต่อการทำให้เซลล์ไม่มีการเกาะกลุ่มกัน หรือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีค่าสูง เกิดจากพฤติกรรมที่ไม่แน่นอนของเชื้อ *C. albicans* ต่อการยึดเกาะบนพื้นผิวพลาสติก และเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีทฤษฎีใดที่เฉพาะ เจาะจงในการอธิบายการยึดเกาะของ *C. albicans* บนพื้นผิวพลาสติกรวมทั้งผิวพอลิเมทิล- เมทาคริเลต ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะอธิบายการยึดเกาะที่ไม่แน่นอนของเชื้อ *C. albicans* บนพื้นผิวพอลิเมทิลเมทาคริเลตและทำให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าสูงได้

ระยะเวลาที่ทำการศึกษาในการทดลองนี้ เลือกศึกษา หลังเคลือบทันที หลังแช่น้ำ 7 วัน 30 วัน และ 60 วัน เนื่องจากการศึกษาการยึดเกาะของเชื้อและการคงอยู่ของวัสดุเคลือบผิว ที่ผ่านมานิยมทำการศึกษาไม่เกิน 30 วัน [Casey and Scheer, 1993; Dominguez *et al,* 1996; Malmström *et al*, 2002] และมีรายงานว่า พื้นผิวที่ถูกเคลือบมีบางส่วนเสียหายที่สัปดาห์ ที่ 4 หลังการเคลือบ [Malmström *et al*, 2002] เนื่องจากการวิจัยนี้ ทำเพื่อศึกษาผลของ การเคลือบผิววัสดุทำฐานฟันปลอมซึ่งจะต้องอยู่ในช่องปากผู้ป่วยเป็นเวลานานกว่า การใช้วัสดุเสริมฐานฟันปลอมแบบนิ่มหรือวัสดุปรับสภาพเนื้อเยื่อตามที่มีผู้ศึกษามาแล้ว จึงทำการศึกษา ที่เวลา 60 วันด้วย เพื่อดูว่าหากแช่น้ำเป็นเวลานาน วัสดุเคลือบยังคงมีผลต่อการยึดเกาะของเชื้ออย่างไร จากการศึกษานำร่อง พบว่า เชื้อ

มีการยึดเกาะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อแช่น้ำเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นมีค่าลดลงในวันที่ 30 หลังการแช่น้ำ ดังนั้น จึงเลือกระยะเวลา 0 7 30 และ 60 วัน มาใช้ในการศึกษานี้

การนับจำนวนเชื้อในการทดลองนี้ใช้วิธีการนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย แต่มีข้อด้อยคือ มีโอกาสนับผิดพลาด จึงมีการนับเชื้อในทุกชิ้นตัวอย่างซ้ำเป็นจำนวน 2 ครั้ง โดยผู้วิจัยคนเดียว เพื่อประเมินความน่าเชื่อถือของผู้วิจัยและเป็นการยืนยันผลการทดลอง นอกจากนี้ในเทคนิคการนับ ได้แบ่งชิ้นตัวอย่างส่วนที่อยู่ในสารละลายเชื้อเป็น 12 ส่วน ก่อนที่จะใช้วิธีการสุ่มแบบง่ายเพื่อนับจำนวนเชื้อในแต่ละส่วน ซึ่งเทคนิคนี้ทำให้การนับกระจายทั่วทั้งแผ่น และจากจำนวนตัวอย่างที่อยู่ในสารละลายเชื้อในแต่ละกลุ่มย่อยเท่ากับ 10 ชิ้น/กลุ่ม ทำให้จำนวนการนับทั้งหมดคือ 120 ตำแหน่งต่อการหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มย่อย ซึ่งทั้งหมดนี้จะช่วยลดโอกาสความเอนเอียงของผลการทดลอง (biased results)

ชิ้นตัวอย่างที่เตรียมได้ในการทดลองนี้มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ย 1.07 ± 0.3 ไมโครเมตร (0.6-1.73 ไมโครเมตร) ในขณะที่การศึกษาของ Ravnholt และ Kaaber (1994) และ Zissis และคณะ (2000) รายงานค่าความหยาบผิวเฉลี่ยของเรซินอะคริลิกชนิดบ่มตัวด้วยความร้อนเท่ากับ 0.8 ไมโครเมตร และ 3.4-3.8 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งการที่ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยจากแต่ละการศึกษาต่างกัน อาจเกิดจากลักษณะพื้นผิวที่แตกต่างกันของต้นแบบที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ชนิดของปลาสเตอร์หิน และชนิดของเรซินอะคริลิกที่ต่างกัน

การเคลือบผิวเรซินอะคริลิก ทำให้ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยของแผ่นเรซินอะคริลิกลดลง ซึ่งกลุ่มที่เคลือบด้วย Palaseal® มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่กลุ่มที่เคลือบด้วย Monopoly และ Glaze® มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีนัยสำคัญ ทางสถิติ ซึ่งความเรียบที่แตกต่างกันนี้ อาจเกิดจากเทคนิคการเคลือบ หรืออาจเกิดจากชนิดและส่วนประกอบของวัสดุที่นำมาใช้ในการเคลือบแตกต่างกัน ในส่วนของความหยาบผิวที่เปลี่ยนไปหลังการแช่น้ำ แม้จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มที่มีการเคลือบผิว แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในกลุ่มที่เคลือบด้วย Monopoly ซึ่งแช่น้ำ 60 วัน โดยค่าความหยาบผิวเฉลี่ย ที่เปลี่ยนไปมีค่าโดยรวมเพียง 0.12 ไมโครเมตร ซึ่งในทางคลินิกอาจไม่ได้ทำให้พื้นผิวเกิดการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้อย่างชัดเจน

ในการทดลองนี้ จำนวนการยึดเกาะของเชื้อ *C. albicans* ในกลุ่มที่มีการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบทั้ง 3 ชนิด มีค่าลดลง (แม้จะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในบางกลุ่ม เนื่องจาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีค่าสูง) ซึ่งสอดคล้องกับ การศึกษาของ Aslan และ Avci (1990) ที่รายงานว่า การ

เคลือบผิวเรซินอะคริลิกชนิดบ่มเองด้วย Monopoly มีผลลดการยึดเกาะของเชื้อ *E. coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในห้องปฏิบัติการ และการศึกษาของ Olan-Rodriguez และคณะ (2000) พบว่าหลังการเคลือบวัสดุเสริมฐานฟันปลอมแบบนิ่มด้วย Palaseal® และให้ผู้ป่วยใส่ฟันปลอม 14 วัน ทำความสะอาดโดยการล้างน้ำ โดยไม่แปรง ฟันปลอม สามารถลดจำนวนเชื้อ *Candida* และแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

ที่เวลาหลังเคลือบทันที สารเคลือบทั้ง 3 ชนิด สามารถลดการยึดเกาะของ *C. albicans* ได้ถึงร้อยละ 85 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดการลดลงของจำนวน การยึดเกาะของเชื้อ อาจเกิดจากการที่สารเคลือบสามารถช่วยปิดรูพรุนเล็กๆ บนพื้นผิว ที่จะเพิ่มพื้นที่ผิวในการยึดเกาะของเชื้อ [Radford *et al*, 1999] และทำให้พื้นผิวมีความเรียบมากขึ้น เชื้อจึงมีโอกาสหลุดจากพื้นผิวได้ง่ายกว่าพื้นผิวที่มีความขรุขระ [Radford *et al*, 1997; Verran and Maryan, 1997; Taylor *et al*, 1998] อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติ ระหว่างความหยาบผิวและจำนวนการยึดเกาะของเชื้อ *C. albicans* ในการทดลองนี้พบว่า มีความสัมพันธ์กันน้อยมาก (สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.205) ภายใต้ข้อจำกัดของการทดลองนี้ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ความหยาบผิวอาจเป็นเพียงปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการ ยึดเกาะของเชื้อ *C. albicans* ซึ่งปัจจัยอื่นที่อาจมีผลต่อการลดลงของจำนวนเชื้อที่ยึดเกาะ ที่อาจเป็นไปได้คือ มอนอเมอร์ส่วนเกินที่เหลือจากปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ ที่อาจมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ [Aslan and Avci, 1990] โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของ Monopoly และ Glaze® ซึ่งเป็นวัสดุประเภทพอลิเมทิลเมทาคริเลตชนิดบ่มเอง หรืออาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติไม่ชอบน้ำของพื้นผิว ทั้งนี้จากการสังเกตในระหว่างการทดลอง พบว่า กลุ่มที่เคลือบด้วย Palaseal® ที่มีผลลดการเกาะของเชื้อมากที่สุดนั้น มีลักษณะพื้นผิวเป็นมันวาว คล้ายกระจกและแทบจะไม่มีหยดน้ำเกาะติด จึงอาจเป็นไปได้ว่า พื้นผิวพอลิเมทิล- เมทาคริเลตในกลุ่มที่เคลือบด้วย Palaseal® จะมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำมากกว่ากลุ่มอื่นๆ จึงมีผลต่อการลดจำนวนการยึดเกาะของ *C. albicans* [Minagi *et al*, 1985; Yamauchi *et al*, 1990]

หลังการแช่น้ำ จำนวนการยึดเกาะของเชื้อในกลุ่มที่มีเคลือบผิวทั้ง 3 กลุ่ม มีจำนวนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่า การแช่น้ำทำให้ผิวของวัสดุมีการเปลี่ยนแปลง สังเกตจาก ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มที่มีการเคลือบผิว ซึ่งอาจทำให้เชื้อสามารถยึดเกาะได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ มอนอเมอร์ส่วนเกินที่ลดลงจากการแช่น้ำ อาจเป็นปัจจัยร่วมที่มีผลทำให้เชื้อยึดเกาะได้

มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาแสดงถึง แนวโน้มที่สารเคลือบทั้ง 3 ชนิด ยังคงสามารถลดการยึดเกาะของเชื้อได้ประมาณครึ่งหนึ่ง เมื่อแช่น้ำเป็นเวลา 60 วัน

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า การเคลือบผิวด้วยวัสดุทั้ง 3 ชนิด มีประโยชน์ในแง่ของการทำให้จำนวน *C. albicans* ที่มายึดเกาะลดลง ในทางคลินิกอาจนำไปใช้เคลือบด้านสัมผัสเนื้อเยื่อของฟันปลอมเพื่อลดโอกาสการยึดเกาะของเชื้อ ซึ่งอาจนำไปสู่การลดความรุนแรงของการเกิดปากอักเสบเหตุฟันปลอม [Barbeau *et al*, 2003] นอกจากนี้ อาจสามารถนำไปใช้ในการเคลือบด้านบนของฝาปิด (the top of removable lid) และด้านในของส่วนรองรับน้ำของ ฟันปลอมปิดกั้นเพดาน (hollow bulb of open hollow obturator) เพื่อลดการสะสมของเชื้อ จุลชีพและลดโอกาสการเกิดกลิ่น [Aslan and Avci, 1990] หรือ อาจใช้เคลือบใต้ฐาน pontic ของสะพานฟันชั่วคราว เพื่อลดการสะสมของคราบจุลินทรีย์ ในส่วนของวัสดุเคลือบผิวที่ศึกษาในการทดลองนี้ Monopoly ซึ่งเป็นวัสดุที่สามารถเตรียมขึ้นได้เองนั้น แม้ว่าจะไม่ได้ทำให้พื้นผิวพอลิเมทิลเมทาคริเลตที่ถูกเคลือบมีความเรียบขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีผลลดการยึดเกาะของเชื้อได้เช่นเดียวกับ Palaseal® และ Glaze® ซึ่งเป็นวัสดุที่ถูกผลิตขึ้นมาเพื่อการค้าและ ไม่สามารถเตรียมขึ้นได้เอง อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการคงอยู่ของวัสดุเคลือบในทางคลินิก เป็นปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงและเป็นสิ่งที่ควรจะทำการศึกษาต่อไป