

## 目錄

一：摘要.....	4
二：前言.....	7
三：文獻回顧.....	10
(一) 傳統牙周病的治療.....	10
(二) 全身性給藥與局部性給藥的差異性.....	11
(三) 局部抗生素用於治療牙周病的歷史.....	12
(四) 使用聚乳酸做為局部給藥之生物代謝性材料的原因.....	13
(五) 選用 Doxycycline 作為治療牙周病的抗生素.....	14
(六) 實驗設計及目的.....	15
四：實驗材料.....	16
五：實驗步驟與過程.....	18
六：實驗結果與討論.....	20
七：圖表.....	28
八：參考資料.....	62



## 圖表目錄

Fig.A：表試片的形狀設計圖.....	17
Fig.1：純的 polylactide 與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係.....	28
Fig.2：此圖為純的 PLA 試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係.....	29
Fig.3：此圖為純的 polylactide 與 <i>S.s.</i> 之抑菌關係.....	30
Fig4：表四組試片之釋放總量圖.....	32
Fig.5：(A) 組的每日釋放圖.....	33
Fig.6：(B) 組的每日釋放圖.....	34
Fig.7：(C) 組的每日釋放圖.....	35
Fig.8：(D) 組的每日釋放圖.....	36
Fig.9：四組的每日釋放圖.....	37
Fig.10：為(1A)試片對 <i>P.g.</i> 之抑菌結果.....	39
Fig.11：為(1B)試片對 <i>P.g.</i> 之抑菌結果.....	40
Fig.12：為(1C)試片對 <i>P.g.</i> 之抑菌結果.....	41
Fig.13：為(1D)試片對 <i>P.g.</i> 之抑菌結果.....	42
Fig.14：此圖為 20:10 試片與 <i>S.s.</i> 之抑菌關係.....	43
Fig.15：此圖為 30:10 試片與 <i>S.s.</i> 之抑菌關係.....	44
Fig.16：此圖為 50:10 試片與 <i>S.s.</i> 之抑菌關係.....	45
Fig.17：此圖為 20:10 完整型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係.....	46

Fig.18 : 此圖為 20:10 四等分型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	47
Fig.19 : 此圖為 50:10 完整型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	48
Fig.20 : 此圖為 50:10 四等分型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	49
Fig.21 : 此圖為 20:10 完整型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	50
Fig.22 : 此圖為 20:10 四等分型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	51
Fig.23 : 此圖為 50:10 完整型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	52
Fig.24 : 此圖為 50:10 四等分型試片與 <i>P.g.</i> 之抑菌關係。	53
Fig.25 : 此圖為 20:10 完整型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	54
Fig.26 : 此圖為 20:10 四等分型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	55
Fig.27 : 此圖為 50:10 完整型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	56
Fig.28 : 此圖為 50:10 四等分型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	57
Fig.29 : 此圖為 20:10 完整型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	58
Fig.30 : 此圖為 20:10 四等分型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	59
Fig.31 : 此圖為 50:10 完整型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	60
Fig.32 : 此圖為 50:10 四等分型試片與 <i>A.a.</i> 之抑菌關係。	61

## 摘要

牙周病的治療上，傳統上的治療為 scaling 及 root planning，對於一些比較頑強的菌種，或存在於組織深層的病菌例如 *A.a.*、*P.g.* 等是造成難治型牙周病的原因，多建議除了 scaling 及 root planning 之外，附加性的使用 chemical therapy。(附註一)

另外，在牙周病手術後，有時吾人會置入 bone graft 及 guide tissue membrane 來達成組織再生的目的，但卻有時因 flap recession 而引起的 membrane 感染的問題。對於防止術後感染上，吾人希望發展出具有抗生素的 membrane，以降低術後感染性，同時能不用二次手術取出此 membrane，希望此 membrane 可被人體自然代謝掉。所含的抗生素濃度在術後皆須達到抑菌濃度以上且維持一段時間。

此實驗希望找出一個含抗生素的 guided tissue membrane 以及最佳的 local delivery device，此 membrane 希望可達到以下的要求：(一)：不需二次手術取出，可被人體自然代謝，且對人體無害。(二)：在置入期間，所釋放的抗生素濃度達到抑菌濃度以上。(三)：釋放的藥物濃度為穩定的釋放。(四)：藥物的釋放時間穩定的釋放達一定時間，此實驗要求至少達 20 天。

此實驗所用的載體為聚乳酸 (polylactide)，選用 Doxycycline 為抗生素，測試的菌種為 *Porphyromonas gingivalis(P.g.)*、*actinobacillus actinomycetemcomitans(A.a.)*、*streptococcus sanguis(S.s)*。實驗所需的條件如下：(一)：聚乳酸的成分：PDLA : PGA = 75 : 25 (二)：壓力：4.0 Mpa (三)：temperature: 55°C (四)：polymer 的分子量：

5000 (五)：試片厚度：1mm (六)：試片尺寸大小，為 10mm×10mm×1mm 的圓形。(附註二)

聚乳酸與抗生素濃度比，本實驗分三次進行，第一次時試片聚乳酸與抗生素濃度比為： 20:10 ， 30 :10 ， 50 :10，再加一組純聚乳酸。第二次試片為 20 :10 ， 30 :10 ， 50 :10。第三次試片為 20 :10 及 50 :10 。將其泡於二次水中，每天抽取 1cc 並置於-80°C 冰箱中放置 (附註三)，同時將溶液更新，如此步驟持續 20 天，此時將之前存放之 sample 取出，分別與 *Porphyromonas gingivalis*(*P.g.*)、*A.a.*、*streptococcus sanguis* 做抑菌測試。

實驗結果如下：三種比例之試片一開始前二天之釋放藥劑量達最高峰，爾後之釋放量為緩和，每天釋放量呈穩定的釋放狀態，直至第 20 天仍有藥劑釋出。

試片釋放之藥劑對於 *P.g.* 的抑菌效果最佳，無論是哪一種形狀、比例，其抑菌效果皆高於最小抑菌濃度，且在這 20 天當中其釋出的藥劑對於 *P.g.* 有抑菌效果；對於 *streptococcus sanguis* 而言，其抑菌效果最差，幾乎完全無抑菌效果，在實驗 20 天試片釋出的藥劑皆對 *S.s.* 無顯著抑菌效果；對於 *A.a.* 而言，部分有抑菌效果，不過其抑菌效果皆小於最小抑菌量的 1000 倍。

結論：試片釋出的劑量基本尚可持續釋放 20 天以上，釋出的藥對於 *P.g.* 效果佳，對 *A.a.* 次之，*S.s.* 的效果則不理想。因此，使用 Doxycycline 為藥物的本釋放系統應適用於 local delivery 來治療 refractory periodontitis 為主的病原菌。對以 *S.s.* 為主的 GTR

表面 plaque 則應改用其他藥物為佳。

## 前言

牙周病的產生，現今的認知為一方面來自 periodontal pathogen，如 *actinobacillus actinomycetemcomitans*(A.a.)，*Porphyromonas gingivalis*(P.g.)，*Prevotella intermedia*(P.I.)，*Eikenella corrodens*，*Fusobacterium nucleatum* 等(附註四)，另一部份來自宿主本身的免疫機制(附註五)，目前治療牙周病的方法，即去除致病因子。去除牙周致病菌方法如下：

(一)：mechanical debridement: 即 SRP(scaling 和 root planning)，或牙周手術。(二)：chemical therapy: 在組織深處藏有 *actinobacillus actinomycetemcomitans*(A.a.)，*P.g.*，因此對於 refractory periodontitis 及 recurrent periodontitis 病人單純使用 mechanical method 效果未盡滿意，因此有 chemical therapy 的必要。(附註六)

Chemical therapy 可分為：(一)：全身投予型 (systemic delivery)：：經由口服的途徑，但局部藥物濃度低，且影響範圍為全身性，易有 side effects，且時效不足為其缺點。此法需病人良好的配合才可實行。(二)：局部投予型 (local delivery)：局部濃度高，抗藥性低，不易產生 side effects 且時效性長為其優點，且較可不考慮病人配合的因素。(附註七)

目前研究的主題為發展出一長效性可置入式局部藥物釋放系統，應用在牙周病的治療。觀察以往的作法上，其方法歸類如下：(一)：直接在牙周囊袋上放置 tetracycline，避免造成全身性副作用且可使 tetracycline 直接作用在 target area。

(MacAlpine 1985) (附註八) (二)：dialysis tubing as drug-impregnated solid devices，是一種將 tetracycline 帶入牙周囊袋中。(Goodson, Lindle, 1979) (附

註九) (三)：使用 monolithic polymer fiber 將 tetracycline 帶入牙周囊中。

( Goodson,1983,1985 ) (附註十) (四)：採用 acrylic strips 來達到相同目的 ( Addy , Langeroudi , 1984 ) (附註 11) (五)：Atridox，即使用 polymer 內含 doxycycline，置入牙周囊袋中。

固體材料一般使用上可維持藥物停留的時間，但缺點是需要二次手術取出有時可因為病人的口腔衛生維持不佳而產生感染的現象。另外，有人發展出液狀 ( liquid ) 或膠狀 ( gel ) 的材料將抗生素帶入牙周囊袋中，但效果不佳，維持時間不長，容易被牙溝液沖散或稀釋。所以理想的藥物釋放系統 ( drug delivery system ) 需能提供：(一)：目標區有適當的藥物濃度。(二)：可長時間且緩慢的釋放藥物。(三)：能被人體自然代謝而不需二次手術取出。

此次實驗中所做的局部藥物釋放系統，所採用抗生素的載體為聚乳酸 ( polylactide ) 因其有如下的優點：(一)：提供長時間釋放藥物以達治療目的。(附註 12) (二)：載體經由 TCA cycle 代謝，不需手術移除 (附註 13)。(三)：載體經由水解 ( hydrolysis ) 過程，代謝產物為水及二氧化碳。對身體不會產生毒性 (附註 13)。(四)：聚乳酸放入組織中早期周圍其周圍會出現巨噬細胞 ( macrophage ) 和多核巨細胞 ( multinucleated giant cell )，但少了纖維母細胞 ( fibroblast ) 及淋巴球 ( lymphocyte ) 及發炎現象。巨噬細胞及多核巨細胞對崩解的聚乳酸碎片有吞噬的效果 (附註 14)。基於以上優點，所以選用聚乳酸做為局部藥物釋放系統的載體。

本次實驗所用的藥物選用 Doxycycline，其原因如下：(一)：自 1980-以來，即

使用 Doxycycline 為治療牙周病藥物（附註 15）。(二)：在全身投予上，Doxycycline 可在牙齦溝液上有較高的濃度(附註 16)。(三)：Doxycycline 對牙周致病菌，如 *actinobacillus actinomycetemcomitans*(A.a.)，*Porphyromonas gingivalis*(P.g.)，*Prevotella intermedia*(P.I.)，*Eikenella corrodens*，*Fusobacterium nucleatum*，*spirochetes* 均有長期的抑菌效果。(附註 17) (四)：Doxycycline 會經由 demineralization/chelation 而造成在 crown/root 的吸收，在牙根表面可有良好的沈積效果，可緩慢的釋出藥物（附註 18）。(五)：在牙周囊袋部使用 doxycycline 會對口腔中菌落具有抵抗性（附註 19），所以選用 Doxycycline 做為部藥物釋放系統中的抗生素。

本實驗研究為以聚乳酸為抗生素的載體，抗生素選用 Doxycycline，(一) 放置於牙周囊袋中做為局部藥物釋放(二)放置於牙周手術後作為可吸收性的 GTR。

以局部釋放來控制牙周致病菌，並需具備以下優點：(一)：可經由身體代謝，不需二次手術取出。(二)：可緩慢的釋放抗生素並直接作用於目標區，減低對身體的副作用。(三)：釋放出的抗生素濃度需高於最小抑菌濃度，並可作用一段時間。(四)：代謝後的產物不危害周邊組織且不會影響口腔內菌種的平衡，造成身體的抗藥性。

本實驗取 Doxycycline 與聚乳酸之間最佳合成條件，做出許多聚乳酸與 Doxycycline 之間不同比例、形狀之試片，經過長達 20 天的觀察，測其是否對於 *P.g.*、*A.a.* 及 *streptococcus sanguis* 是否有長效之抑菌之效果。

## 文獻回顧

### 一： 傳統牙周病之治療

傳統牙周病之治療為 mechanical method，其中包括 scaling 及 root planning，但此法無法完全消除牙周致病菌，術後常在牙周囊袋中常殘留牙周致病菌，且在一些如 vertical bony defect 處及 furcation 等牙周刮刀難以到達之處，更時常殘留大量牙周致病菌，對於牙周病的治療實為一大缺失，因此才有 chemical therapy 的構想，chemical therapy 需建立在於 mechanical debridement 之後的附加性治療，無法取代 mechanical debridement。過去對於 chemical therapy 選擇 tetracycline，因其具有抑制牙周致病菌、牙齦溝液的濃度較高、抑制 collagenase 產生、附著於 bone 及 tissue 上而緩慢的釋出藥量等優點。合併使用抗生素對於降低牙周致病菌有良好的效果，並可降低局部病灶發炎，改善牙齦健康狀況。(附註 20)

## 二：全身性給藥與局部性給藥的差異性

臨床上治療牙周病爲了控制發炎狀況多使用四環黴素、Minocycline、Doxycycline 來治療，但四環黴素類用藥易造成腸胃道障礙，且易有抗藥性菌種產生，對於有抗藥性微生物會造成 superinfection 及 development 現象。全身性給藥（systemic delivery）在給予四環黴素時，會在牙齦溝上有較高的濃度，比其他種類的抗生素更能達到好的抑菌效果，但必須持續用藥才可維持血清及牙齦溝液的濃度高於最小抑菌濃度（minimal inhibition concentration），但因此易對於身體其他非主要作用區造成副作用，影響範圍爲全身性，且時效不足，局部藥物濃度低，且此法需要病人的配合才可實行。

局部給藥（local delivery）則是將抗生素直接放在作用區，即牙周囊袋或手術區，如此可避免全身性的副作用，且直接作用於目標區，局部藥物濃度高，不易有副作用產生，且此法不需要病人配合即可實行。但如何設計在目標區放置抗生素，且讓抗生素可持續且穩定的長期釋放高於最小抑菌濃度的藥性，這兩者兼具的特性爲本次實驗之主要目的。（附註 21）

### 三 局部抗生素用於治療牙周病的歷史

一：直接將含有抗生素的固體放入牙周囊袋中。(Goodson et al ,1979, Lindle et al,1979)。

二：使用含 25% tetracycline HCL 的 ethylene vinyl acetate fibers 放入牙周囊袋中。(Goodson et al,1983,1985)

三：使用含抗生素的 acrylic strips(Addy&Langeroudi 1984)

四：使用含抗生素的 liquid 或 gel 放置於牙周囊袋中。(Osterwaal 1990)

以上綜合實驗的結果發現固體狀的材料其固著性較佳但不易放入且需二次手術取出，且易有食物殘渣附著易造成感染。而 gel 或 liquid 亦易置入但易被 gingival fluid 沖散清除，而無法持續其藥效性。(附註 22)

#### 四 使用聚乳酸 (polylactic acid) 做為局部給藥之生物性代謝性材料的原因

一：聚乳酸放置牙周囊袋後，短期便開始作用，同時在作用六星期後其主結構並不會全部崩解 (Lundgren D,1994)。

二：聚乳酸完整的代謝及吸收過程約在置入後 6~12 個月後發生 (Lundgren Dsennerby L,1994)

三：聚乳酸在體內的代謝過程是經由 TCA cycle，其水解代謝後的產物主要是二氧化碳及水，所以聚乳酸的毒性和代謝物對身體無害。

四：聚乳酸在體內代謝過程並不會影響到骨頭的生成，且對於人工植牙體周圍也不會有負面影響 (Mathisen T,1994)

五：聚乳酸放入組織中早期其周圍會出現巨噬細胞 (macrophage) 和多核細胞 (multinucleated giant cell) 等 foreign phagocytosis 之發炎現象的表徵，但缺乏纖維母細胞 (fibroblast) 和淋巴球 (lymphocyte) 及發炎現象。巨噬細胞及多核細胞對已崩解的碎片會有吞噬作用。

由上可見，聚乳酸為一很好的生物性代謝材料，可在體內維持一段時間才可被完全吸收而不引起發炎反應。生物相容性很好，所以本實驗選擇聚乳酸做為局部給藥攜帶抗生素的載體。

## 五 選用 Doxycycline 為治療牙周病之抗生素

- 一：自 1980 年開始 Doxycycline 即被使用來治療牙周病。
- 二：全身性的投予上 Doxycycline 在牙齦溝液上有較高的濃度。
- 三：Doxycycline 對很多牙周致病菌如 *actinobacillus actinomycetemcomitans* ,  
*Prevotella intermedia* , *Eikenella corrodens* , *Fusobacterium nucleatum* ,  
*Spirochetes* 均有 long-duration 的抑菌效果。
- 四：Doxycycline 對於牙根表面有較佳的沈積現象。
- 五：牙周囊袋中使用 Doxycycline 對口腔內菌落 (oral flora) 具有抵抗性，  
不會造成外來菌種的增加。
- 六：Doxycycline 會經由 demineralization/chelation 而造成在 crown/root 的吸收，  
其亦可吸收在鄰近組織中，緩慢的釋放藥物，而達到 local delivery 的效果。  
上述特性為四環黴素類藥物的特性，其對於 periodontal-adjacent-tooth-surface  
environment 較其他種類的抗生素有較佳的滯留性，所以選用 Doxycycline 為局部  
藥物釋放系統的抗生素。
- 七：Doxycyclin 屬 tetracycline 第三代改良藥，藥效持續時間較長，藥量降低，對身體  
副作用較少，且對胃腸之影響較微小。
- 八：所有抗生素中僅 Tetracycline 類藥物有抑制 collagenase activity 功能，可抑制  
G(-)endotoxin 及 leukocyte function。且 Doxycycline 為所有四環黴素類中  
anticollagenase activity 能力最強者。

## 六 實驗目的及設計

本實驗希望可找出一種內含抗生素的生物代謝性材料以治療牙周病，此材料可(一)直接置入牙周囊袋中，作為 local delivery 之用，或(二)置於手術後當成含抗生素之 guided tissue membrane，具有不錯的固著性，不需二次手術取出，因其可被人體自然代謝，代謝產物不傷害附近組織，不易被牙齦溝液沖散，且可在目標區持續緩慢的釋放抗生素，以去除牙周囊袋的致病菌，降低局部發炎現象，避免全身性的副作用，直接作用於目標區，恢復牙齦的健康。首先，實驗條件為已設定好，製備條件設定最佳狀態，製作出不同比例的試片，不同形狀的試片，經過長達 20 天二次水的泡製(\*)與每天吸取 1cc 後，於 in vitro 與細菌如 *A.a.*、*P.g.*、*streptococcous* 等菌種之實驗，觀察其是否有抑菌之效果，且其濃度是否遠高於最小抑菌濃度。

\*(系統可分為 accumulation type 及 daily renew type，差別在於 medium 有無每天置換)

## 實驗材料

本實驗製備出材料的抗生素釋放結果，每一試片皆放置於 200cc 的二次水中，每天抽取 1cc，於 20 天後結束抽取，本實驗分三批次進行，第一批試片為製備出如下條件的試片：

一：試片厚度：1mm

二：試片大小:10mm×10mm×1mm

三：製作壓力：4.0Mpa

四：聚乳酸分子量：5000

五：溫度：55°C

六：PDLA：PGA=75:25

試片設計：

第一批：

polymer:antibiotic=	20:10(thickness=0.5mm)(weight=0.66g)
	20:10(thickness=1.0mm)(weight=0.66g)
	30:10(thickness=1.0mm)(weight=0.66g)
	50:10(thickness=1.0mm)(weight=0.66g)

純的 polylactic acid

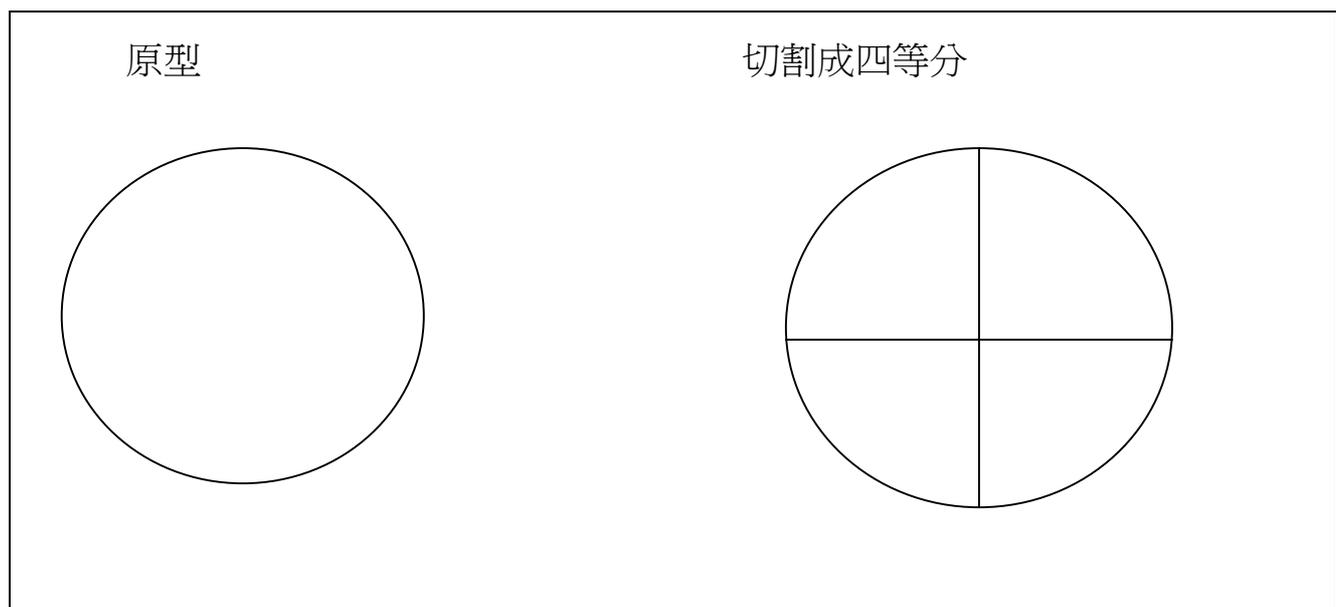
第二批：

polymer:antibiotic=	20:10
	30:10
	50:10

第三批：

polymer:antibiotic= 20:10 各 4 片（其中兩片分割成四份）

50:10 各 4 片（其中兩片分割成四份）



## 實驗步驟與過程

本實驗選用 Doxycycline 為本實驗製備含抗生素生物代謝性材料的主要成分，製備過程的條件為已知，再將 polymer 與 Doxycycline 混合，製備過程裡融合過程主要分為兩階段來進行，首先把 PLA 粉末和抗生素粉末混和均勻，加熱使兩者因融化而互相接觸，形成所謂 fusion zone，此時兩者可形成一三度空間的網狀結構，且伴隨著密度的改變，此過程稱為 sintering。接下來網狀結構間的氣泡會被一些由毛細作用而來的融溶狀 polymer 所填滿，於是抗生素分子就被包在裡面了。

首先實驗分三批進行，將第一批試片泡在 200cc 二次水中，每天抽去 1cc 再放入 -80 °C 冰箱中，此過程持續 20 天，中間不換水，20 天後，測每一天抽取 1cc 液體之 OD 值 ( $\lambda = 380\text{nm}$ )，以求得其顏色之 OD 值。再將每一天抽取之液體直接與 *P.g.* 做抑菌實驗，作法如下：

- 從 aliquot 取出  $60\ \mu\text{l} + 540\ \mu\text{l}$  之含菌液
- 的 medium，混合均勻。(A)
- ↓
- 從(A)取出  $60\ \mu\text{l} + 540\ \mu\text{l}$  之含菌液
- 的 medium，混合均勻。(B)
- ↓
- 從(B)取出  $60\ \mu\text{l} + 540\ \mu\text{l}$  之含菌液

- 的 medium，混合均勻。(C)
- 
- 從(C)取出  $60\ \mu\text{l} + 540\ \mu\text{l}$  之含菌液
- 的 medium，混合均勻。(D)



上述實驗過程為將抽取液稀釋成 1/10，1/100，1/1000，1/10000。再將其做抑菌實驗。第二批試片基本上步驟一樣，不過試片設計上加了一片純的 polymer，菌種則使用 *S.s.*。第三批試片則只採用 polymer : antibiotic=20:10 和 50 :10，每一比例各 4 片，當中每一比例中的其中 2 片為將其切割成四份，觀察其抑菌是否有所不同，菌種則採用 *A.a.* 與 *P.g.*，觀察試液之抑菌實驗為將其直接以 OD 值 ( $\lambda = 600\text{nm}$ ) 測試。

在每一批試片放入浸泡二次水之前，皆須經過約 30 分鐘的紫外線的照射，才開始實驗。浸泡溶液方面都採取二次水，第一批試片浸泡液不置換 (accumulation type system)，每天抽取 1cc，直到第 20 天為止。第二批則採取每天抽取 1cc，每天換全新的二次水 200cc(renew type system)，直到第 20 天為止皆如此。第三批採取的方式如同第二批試片(renew type system)。

## 實驗結果與討論

現今有許多的材料及抗生素皆被用來做為局部藥物釋放系統的載體與藥物，因不同的活性而使抗生素在目標區有不同的滯留濃度。現今最熱門的抗生素載體為聚乳酸，它具有無毒性及不會引起發炎反應現象，且其經吸收後不會在人體內遺留任何的殘塊。參考之前的實驗中(附註 23)，曾使用的分子量高達 32600 的 polymer，抗生素與 polymer 的比率為 1:1，融合溫度為 110°C，PDLA:PGA=7:3 的含抗生素的生物代謝性材料，此種材料的釋放曲線在置入後即呈現高濃度的狀態，約 4~6 星期釋放完畢，所以材料的性質影響釋放動力學 (release kinetics)，更影響釋放機制，所以不同材料性質其釋放機制為不同。

因此，我們選定低分子量 (MW=5000)，低融合溫度來製備我們所需的含抗生素生物代謝性材料。我們將其統一製成厚度為 1mm，依 PLA:antibiotic=5:1，3:1，2:1 製備試片，並多做一組的純 PLA 來做對照，每一批試片開始實驗時皆需經過紫外線的照射 30 分鐘，每一片試片之後秤重，然後皆泡於 200cc 二次水中，每天取 1cc，並將其立即冷凍於-80°C 冰箱中，實驗分 accumulation type 與 daily renew type 兩大組別，其差別在於在於 medium 是否有每日置換。當時實驗結束之時 (即第 20 天後)，將其浸泡液倒乾，秤重，之後收集的每一試管液體，開始了以 OD 值來測量每一試管溶液的濃度表現，( $\lambda=380\text{nm}$ )，之後再做抑菌測試。

為了測試其每天的釋放的藥物濃度是否高於最小抑菌濃度 (minimal inhibition concentration)，我們設計了每一管試液分別稀釋了 1/10，1/100，1/1000，1/10000。然

後做抑菌測試，同時建立對照組觀察。

實驗剛開始爲了先測試試片之抑菌效果是否爲 polylactic acid 所爲，因此設計了純的 polylactide 試片，做抑菌測試，菌種則選擇 *A.a.*、*S.s.*、*P.g.*，由 fig.1,2,3 可得知，polylactide 對於 *A.a.*、*S.s.*、*P.g.* 這三菌種是無抑菌性質的，因此實驗一開始即可排除 polylactide 對於菌種抑菌之可能性。倘若實驗進行發現有 sample 有抑菌的現象，即可推斷純爲 antibiotic 的功效。

由 fig.4 可見四組試片在實驗開始第 0 與第 1 天即已釋放出大部分的抗生素，且 (B) 試片釋放量最大，(A) 試片次之，(C) 試片與 (D) 試片其釋放量緊接在後，推究其因爲 (B) 本身含抗生素量最高，又其釋放表面積又爲 (A) 之兩倍，故釋放量當然較同形狀、同比例的 (A) 組大。同時，也因 (B) 組試片其因含抗生素比例和本身釋放抗生素的表面積爲全組之冠，故由 fig.4 可見其在第 20 天其釋放總量爲全組之冠。

Fig.9 可明顯看出來，無論任何重量百分比之試片，各組皆於第 0、1 天釋放大量的抗生素，於第二天後，每一組釋放抗生素的量均屬差不多，且也較爲呈現一穩定的釋放。

由 fig.5~8 爲各試片每天釋放之抗生素的量，可見各組在第 2~20 天試片釋放之藥量爲屬穩定之釋放。(D) 組試片在第 0、1 天之藥物釋放量爲全組最低。但各組皆於第 2 天以後至第 20 天其藥物之釋放爲呈現穩定釋放，釋放之藥量各組皆差不多。

另將四組試片 (accumulation type) 與 *P.g.* 做抑菌測試，結果可由 fig.10~13 可見，四組試片於實驗中任一時間釋放之藥量對 *P.g.* 有良好的抑菌效果。由於此次實驗的

medium 並無每天置換，藥量屬於累加的結果，有良好的抑菌結果是可預期的。

因此，吾人又設計另一組試片，屬於每天置換 medium 的系統 (daily renew type)，由 fig17、19、21、23 可見，無論任一種 polymer 與抗生素之重量百分比的試片，每一試片每天釋放之藥量對 *P.g.* 有一良好的抑菌效果。由此可知，無論是 (B) 組試片 (含抗生素比例最高者) 或 (D) 組試片 (含抗生素比例最低者)，對於 *P.g.* 皆有良好的抑菌結果，即使第 2 天以後至第 20 天，各組雖可預期的其藥物釋放為呈現一穩定且低量的釋放，但其釋放藥物之量卻仍足以對 *P.g.* 有良好的抑菌結果。

由上可知，無論任何一重量百分比 (polymer:antibiotics) 之試片，其每天釋放之藥量對於 *P.g.* 皆有良好的抑菌效果。

對於 *A.a.* 之抑菌情況，fig.25、27、29、31 顯示各種重量百分比 (polymer：抗生素) 的試片 (屬於 daily renew type study) 對於 *A.a.* 之抑菌效果也不錯，雖不像 *P.g.* 的效果那麼明顯，但其抑菌效果仍屬不錯。絕大多數的 sample 顯示都有抑菌的效果。

對於 *streptococussanguis(S.s.)* 之抑菌情形，由 fig.14~16 顯示包括各種重量百分比 (polymer:antibiotic) 的試片 (屬於 daily renew type study) 對於 *S.s.* 之抑菌效果不佳，即使含抗抗生素濃度最高的試片 (2B) 其對於 *S.s.* 之抑菌效果仍差，其他如 (2C) 與 (2D) 試片之抑菌狀況 (show in fig.15,16) 也差，理論上其本身抗生素含量本來就不高，釋放出來的量亦不多，當然抑菌狀況一定不佳。

觀察實驗中的情形，發覺其絕大多數的 sample 其不但無抑菌狀況，似乎菌種仍長得非常茂盛。因此推斷其有抗藥性產生。(J of clin periodontal, J.G.Caton, 2001)。(附

註 24)

另外，對於試片形狀之探討，我們設計了兩種重量百分比的試片（3A 與 3B）其中又將其區分為完整型與四等分型（3Ac、3Af、3Bc、3Bf），其 medium 系統我們選擇 daily renew type，對於 *P.g.* 的抑菌情形，我們由 fig.17~24 可發現無論試片是完整型或是四等分型，其抑菌效果皆佳。

同一重量百分比（polymer:antibiotic=20:10）的試片對 *P.g.* 的抑菌情形，我們將其區分完整型與四等分型，其抑菌情形分別為：完整型（show in fig.17,21）與四等分型（show in fig.18,22），可見無論試片為完整型或是四等分型，其抑菌效果皆佳。

另一重量百分比（polymer:antibiotic=50:10）的試片對 *P.g.* 的抑菌情形，我們亦將其區分完整型與四等分型，其抑菌情形分別為：完整型（show in fig.19,23）與四等分型（show in fig.20,24），可見無論試片為完整型或是四等分型，其抑菌效果皆佳。

此次實驗的探討在於試片將來應用於 local delivery 及 guided tissue membrane 的可行性，一般牙周手術後若有 bone graft 之需要時，為了避免 epithelium 生長速度過快進而取代骨頭生長的空間，一般我們會採用在 bone graft 外置入一層 guided tissue membrane，以防止 epithelium 長入，剛開始有 guided tissue membrane 觀念時，guided tissue membrane(GTR)屬於 foreign body，此 membrane 是需要二次手術取出的，亦即牙周手術後約 6~8 週後及應當取出此 membrane，因此這段時間此 membrane 的 infection control 相形重要。否則此 membrane 有 infection 時，則代表 bone graft failure。

後來，guided tissue membrane 發展成為 biodegradable，不需要二次手術取出，

相對來說，避免二次的感染機會大增，但此 biodegradable membrane 的 infection control 更加重要，若有 infection 的情形則 bone graft 照樣失敗。因此，含有抗生素的 membrane 之想法誕生，理論上，若 membrane 含有抗生素，則相對來說其發生 infection 的機會便大減，選擇何種抗生素相形重要。此抗生素必須具備有可對抗牙周致病菌，且此抗生素必須要能在此 biodegradable membrane 分解的同時緩慢釋放，且其每次緩慢釋放出來的濃度能遠高於 MIC(minimal inhibition concentration)，如此為一理想的含抗生素之 biodegradable membrane。

對於 biodegradable membrane，我們選擇 polylactic acid (PLA) 為抗生素的載體 (vehicle)，因其具有以下特性：(一) 聚乳酸置入牙周囊袋六星期後期主結構仍未崩解 (Lundgren D,1994) (二) 聚乳酸的代謝及吸收過程在置入牙周囊袋後 6~12 個月後發生 (Lundgren Dsennerby L,1994) (三) 聚乳酸在體內的代謝過程為經由 TCA cycle，且水解後代謝產物為水及二氧化碳，對身體無害。(四) 聚乳酸置入組織的早期周圍會出現 macrophage 和 multinucleated giant cell 等 foreign phagocytosis 之發炎現象表徵，對於已崩解的聚乳酸的碎片有吞噬作用。

抗生素的選取方面，此次實驗採用 Doxycycline，因其具有以下特性：(一) 從 1980 年代以來及被廣泛應用於治療牙周病。(二) 在全身性藥物的投與上 Doxycycline 在牙齦溝液上有較高的藥物濃度。(三) Doxycycline 對於許多牙周致病菌如 *actinobacillus actinomycetemcomitans*，*Prevotella intermedia*，*Eikenella corrodens*，*Fusobacterium nucleatum*，*Spirochetes*，*Porphyromas gingivalis* 均有 long-duration 的抑

菌效果。(四): Doxycycline 對於牙根表面有較佳的沈積現象。(五): 牙周囊袋中使用 Doxycycline 只會增加對口腔內菌落 (oral flora) 的抵抗性, 不會造成外來菌種的增加。(六): Doxycycline 會經由 demineralization/chelation 而造成在 crown/root 的吸收, 其亦可吸收在鄰近組織中, 緩慢的釋放藥物, 而達到 local delivery 的效果。(七) 其對於 periodontal-adjacent-tooth-surface environment 較其他種類的抗生素有較佳的滯留性, 所以選用 Doxycycline 為局部藥物釋放系統的抗生素。(八): Doxycyclin 屬 Tetracycline 第三代改良藥, 藥效持續時間較長, 藥量降低, 對身體副作用較少, 且對胃腸之影響較微小。(九): 所有抗生素中僅 tetracycline 類藥物有抑制 collagenase activity 功能, 可抑制 G(-) endotoxin 及 leukocyte function。

實驗設計好 membrane 便需考慮其抑菌性, 菌種的選擇此次實驗選取三種菌種: *Streptococcus sanguis (S.s.)*、*Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.a.)*、*Porphyromonas gingivalis (P.g.)*。

選擇 S.s. 的原因為為此菌種屬於早期最有可能 regrowth 至手術區的菌種, 屬於 pre-existing plaque mass, 單純的 mechanical debridement (SRP) 對其改變不大。(Haffajee et al.1997.)

*Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.a.)* 屬於 G(-), nonmotile, 存在於 localized juvenile periodontitis、adult periodontitis 之 lesion 處的 pocket or tissue 的 apical area。可攻擊 human gingival epithelium cells (Blix et al. 1992, Sreenivasan et al.1993)。A.a. 在牙周病上為扮演一個重要角色。

*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) 爲 G(-)，anaerobic，爲引起許多種類型的牙周病的致病因子之一，可攻擊 human gingival epithelium cells (Duncan et al.1993)，存在於 pocket epithelium 的表面及深層。另外，*A.a.*及 *P.g.*皆可穿透 tissue 至組織深層。

實驗一開始即已排除了 polylactic acid 的抑菌可能性，對於各種重量比例 (polymer:antibiotic) 的試片對於 *streptococcus snaguis* 的抑菌能力上，由本次實驗可得知此次試片釋出的 Doxycycline 不足以將 *S.s* 產生抑菌情形。且在許多實驗的 sample 上可見 *S.s.*的生長情形絲毫不受試片釋出之藥物的影響。故推測其有抗藥性。

在 (J of clin periodontal , J.G.Caton, 2001) 上可見 *Streptococcus* 對於 Doxycycline 的抗藥性比例頗高。故由此實驗的結果來看，若此試片要應用於 Guided tissue membrane 上爲不可行，因 *streptococcus* 爲屬初期 regrowth 到手術區的菌種，若此 membrane 再手術後初期無法控制住 *streptococcus* 的存在，將來發生感染的機會大增。因此本實驗建議此種試片不建議使用於 Guided tissue membrane 來作對 *S.s* 的抑菌用途。

對於 local delivery 的使用上，本次實驗可見試片釋出的藥物對於 *P.g.*的抑菌狀況非常好，對於 *A.a.*也有不錯的抑菌結果，但有些部分對 *A.a.*無法像對 *P.g.*那樣的絕對抑菌情形，由 (J of clin periodontal,1990,slots J and Rams) 可知，Doxycycline 對於 *A.a.*之 in vitro susceptibility 濃度爲 6  $\mu$ g/ml，對 *P.g.*則爲 1  $\mu$ g/ml。Doxycycline 對於 *A.a.*之 MIC (minimal inhibition concentration) 爲 *P.g.*的六倍，實驗當中有時試片釋放出的藥劑無法對 *A.a.*產生抑菌，推論爲 antibiotics 被 PLA 所包圍，有時釋出的量不足，導致抑

菌情況不佳，但絕大多實驗中間試片所釋放的藥物濃度皆可對 *A.a.* 有抑菌效果。

試片的形狀方面，我們多設計了兩組試片，可分為完整型與四等分型（ show in fig.1 ），同時多設計了兩組不同重量百分比（ polymer : antibiotic = 20 :10 ， 50 :10 ）的試片，實驗得到的結果我們可發現到無論是任一形狀或比例的，對於 *P.g.* 的殺菌效果皆佳，故試片形狀對於藥物釋放造成抑制 *P.g.* 的結果為相同的，沒有任何差異。

另外試片的形狀對..而言，將試片分成四等分對於釋放出來的藥物，其對 *A.a.* 的抑菌行為仍與完整型試片的結果相差無幾。因此亦推斷試片形狀對於藥物釋放造成抑制 *P.g.* 的結果為相同的，沒有任何差異。

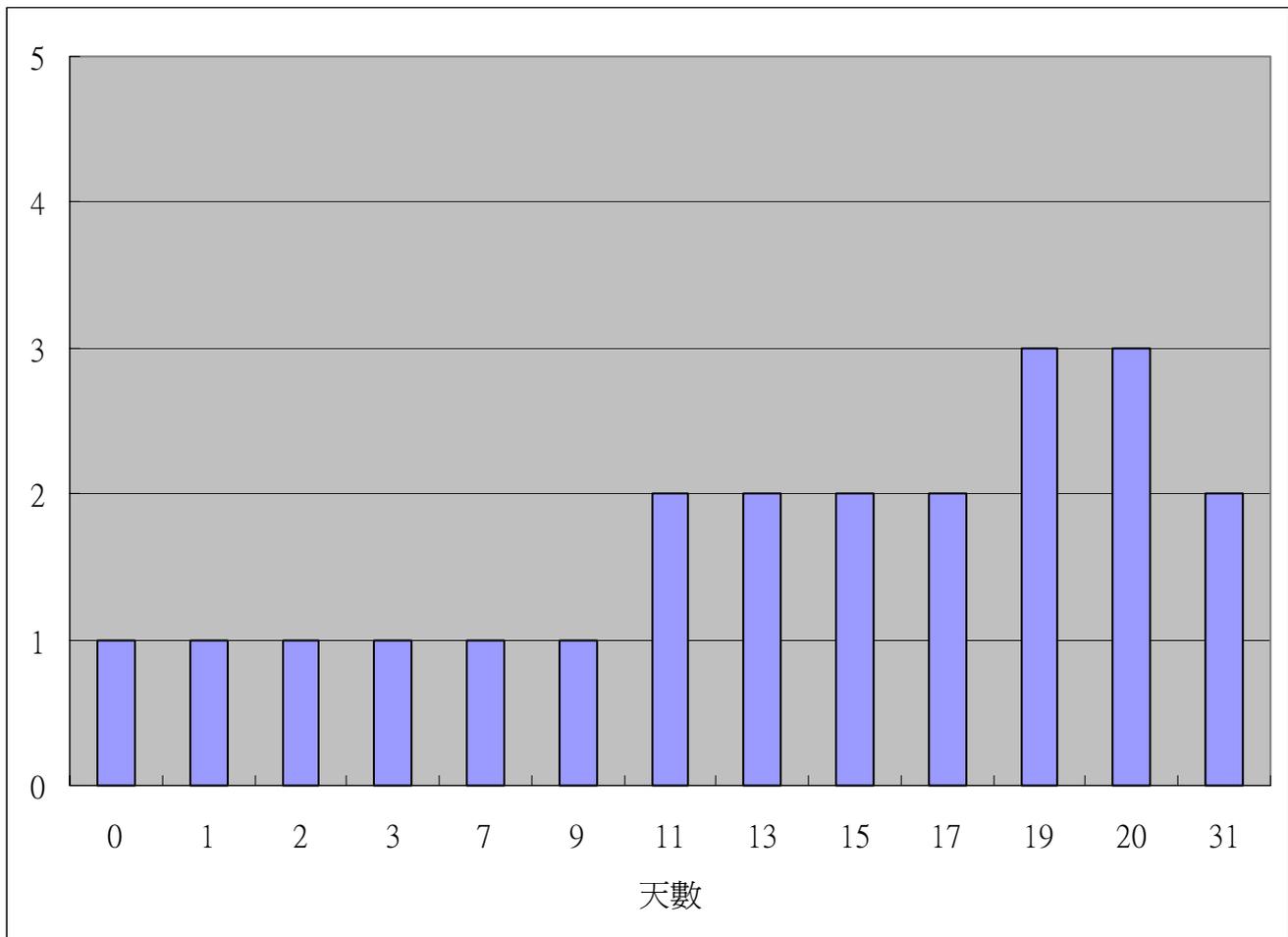
理論上來說，將試片分成了四等分，其與外界接觸的藥物釋放表面積增加，其釋出藥物的量應更多，但對於 *P.g.* 而言卻是不需要的，完整的試片其釋出的藥量即足以對 *P.g.* 產生抑菌的狀況，或許，將試片分成多等分對其他菌種其 MIC(minimal inhibition concentration) 要求較高者有其必要性。這部分仍須進一步做更多的實驗來探討。

由此次實驗可得知，此試片若用於 local delivery 來對抗 *P.g.* 之菌種是可行的；對 *A.a.* 也產生不錯的抑菌的效果。但若要用於含抗生素之 guided tissue membrane 上對抗 *S.s* 而言則顯不足，因 *S.s.* 對 Doxycycline 有抗藥性產生，故不推薦使用。倘若要應用於含抗生素之 guided tissue membrane，吾人建議改換抗生素，推薦 clindamycin，因其對 *A.a.*、*P.g.*、*P.i.*、*Fusobacterium nucleatum* 皆有抑菌效果，且其對菌種之 MIC 比 Doxycycline 小，故推薦 clindamycin 取代 Doxycycline，做成含抗生素之試片，至於其

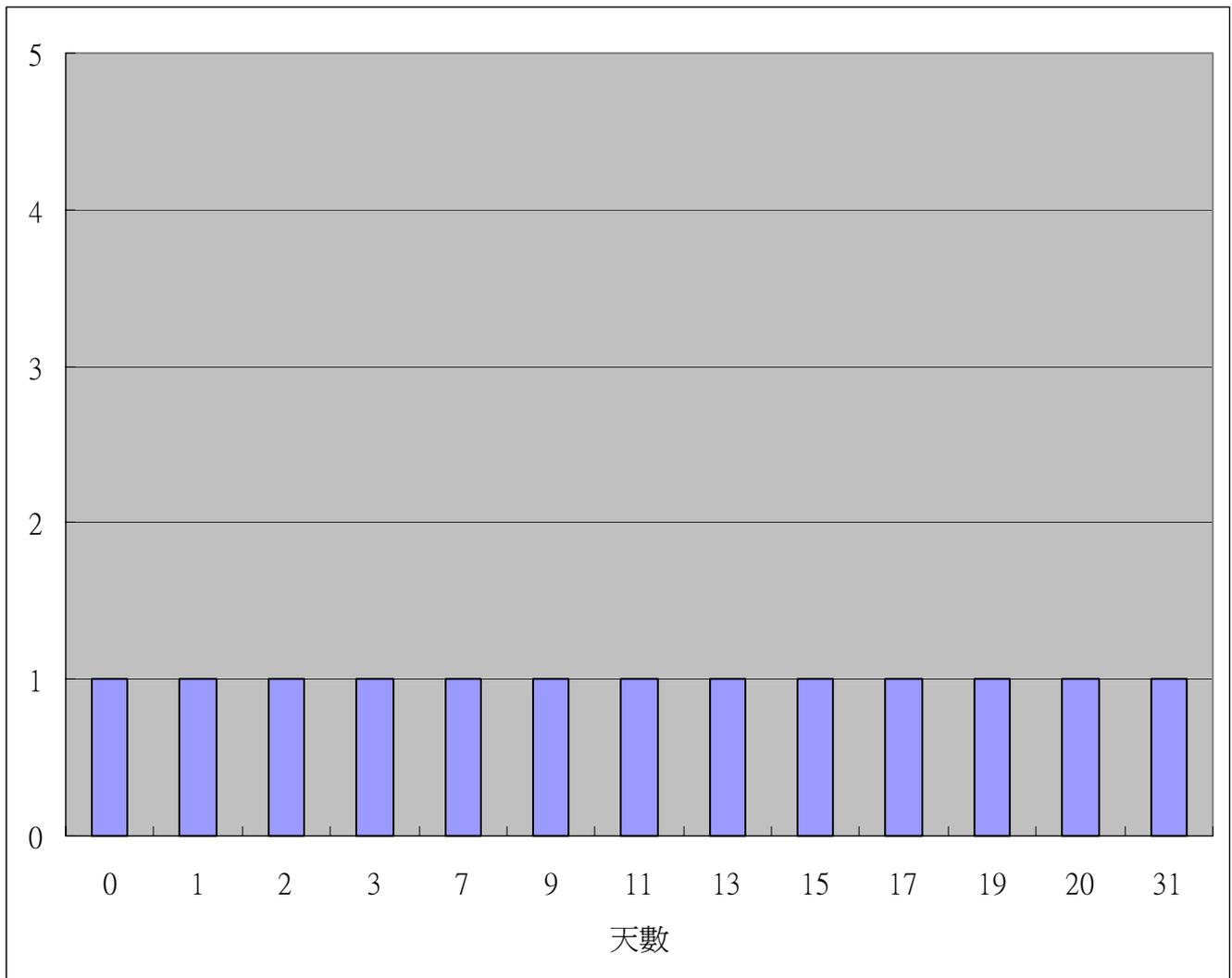
效果有待更多的實驗來探討。

(圖表說明)

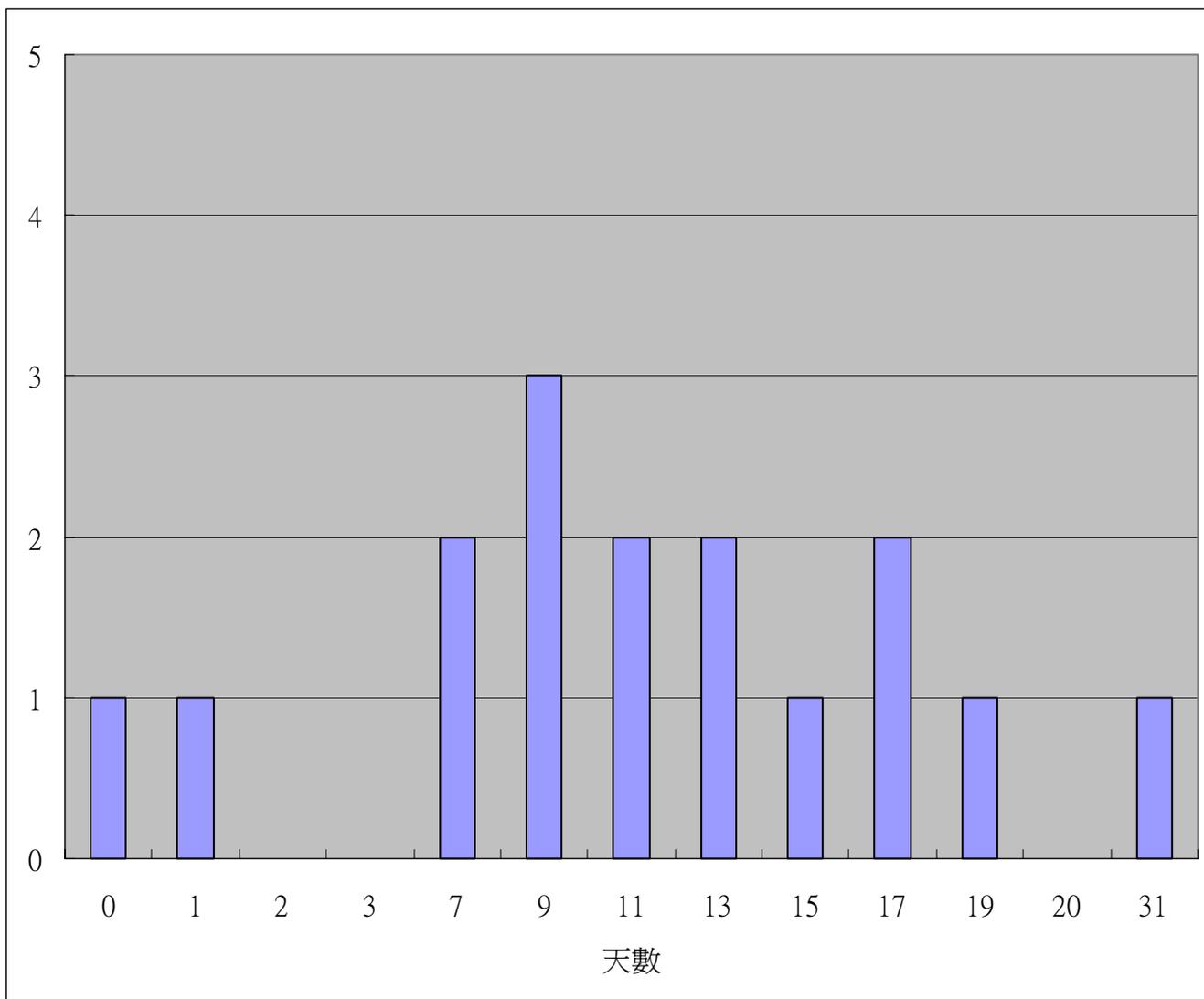
X 軸代表天數，Y 軸值 = 1 時表溶液的 1/10 有抑菌效果，= 2 時表溶液的 1/100 有抑菌效果，= 3 時表溶液的 1/1000 有抑菌效果，= 4 時表溶液的 1/10000 有抑菌效果。實驗時菌種與試片溶液之抑菌結果以 OD 值 ( $\lambda = 600\text{nm}$ ) 測試，我們設定當 OD 值大於 3 時代表試液有意義的抑菌，小於 3 則為有抑菌，等於 0 則為無抑菌情形。



(Fig.1): 純的 polylactide 與 *A.a.*之抑菌關係,可見於第 19、20 天有抑菌情形。



(Fig.2): 此圖為純的 PLA 試片與 *P.g.*之抑菌關係,實驗期間全無抑菌情況發生。

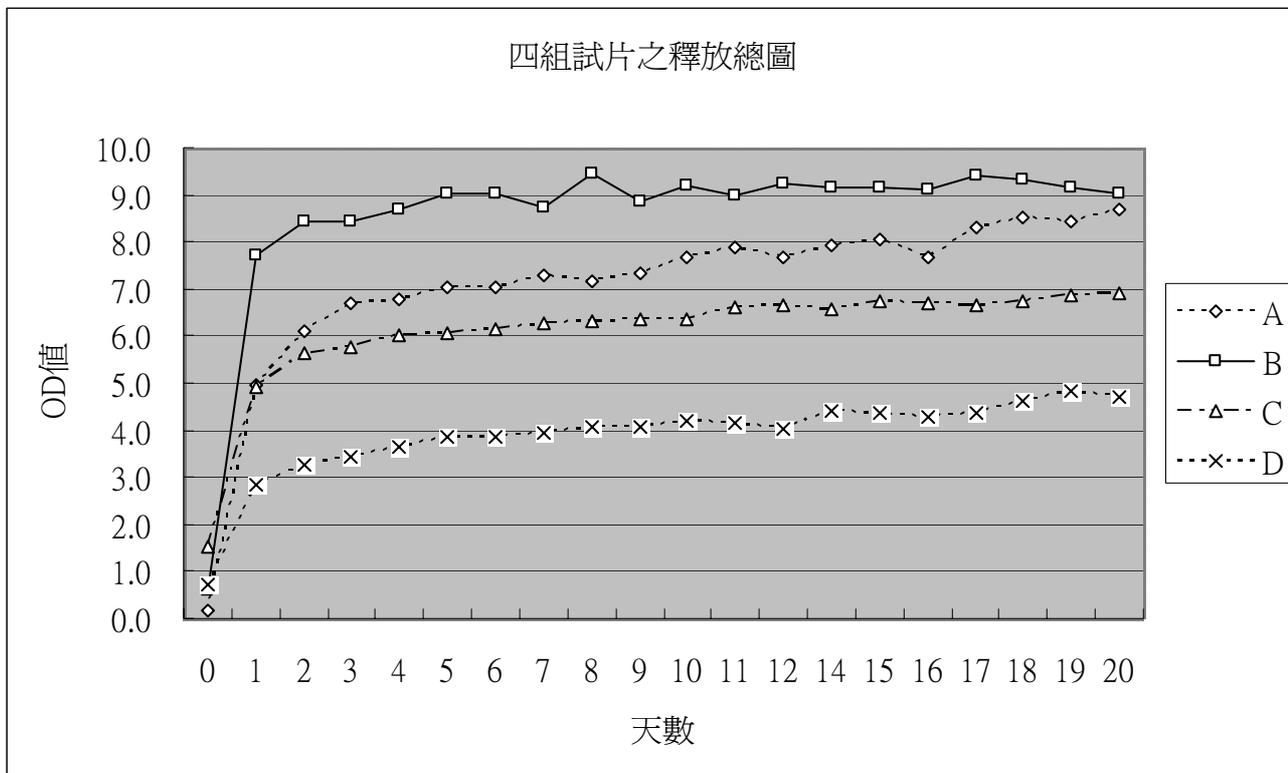


(Fig.3) :此圖為純的 polylactide 與 *S.s.*之抑菌關係，可見於第 9 天有抑菌情形

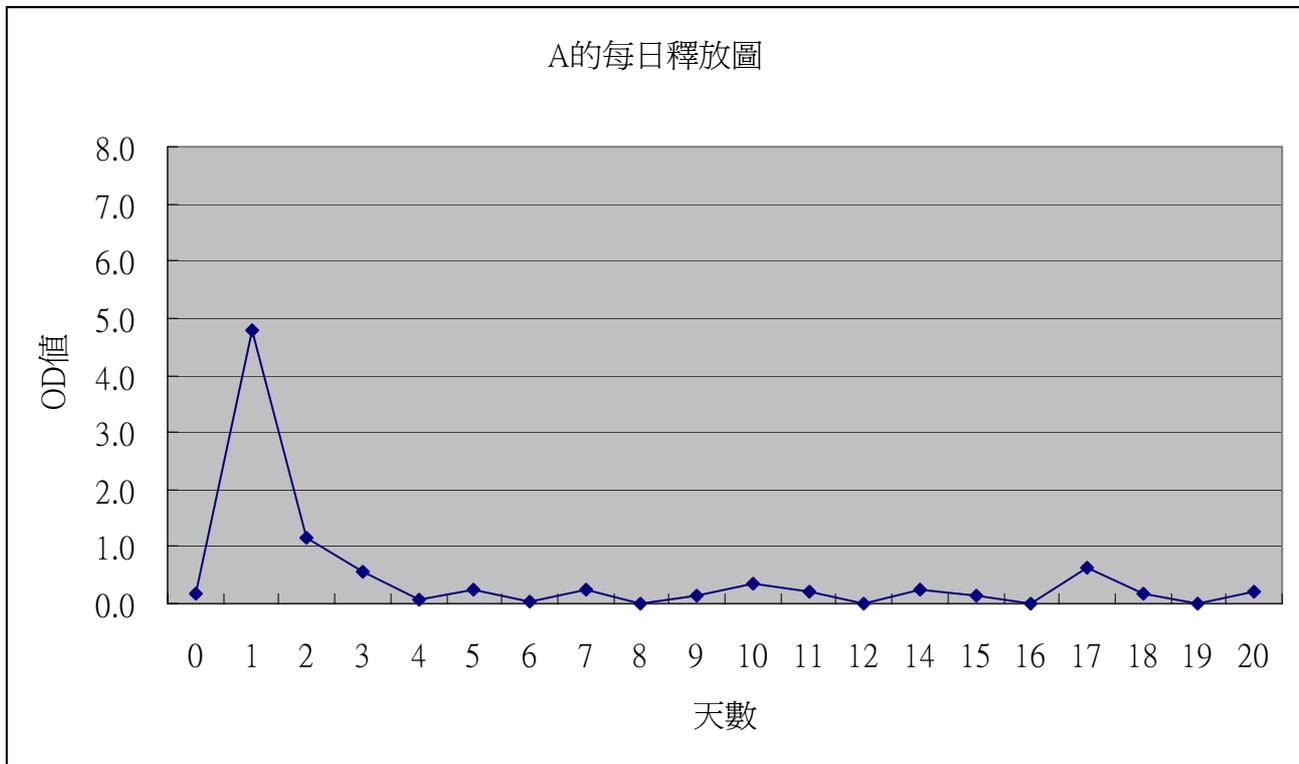
一：此圖為每天各個試片釋放之圖：

	PLA	:	antibiotic	
A =	2	:	1	(厚 0.5mm)
B =	2	:	1	(厚 1.0mm)
C =	3	:	1	(厚 1.0mm)
D =	5	:	1	(厚 1.0mm)

\* (圖表說明) X 軸代表天數，Y 軸代表 OD 值 (表試液的濃度)，以  $\lambda = 380\text{nm}$  來測 OD 值。

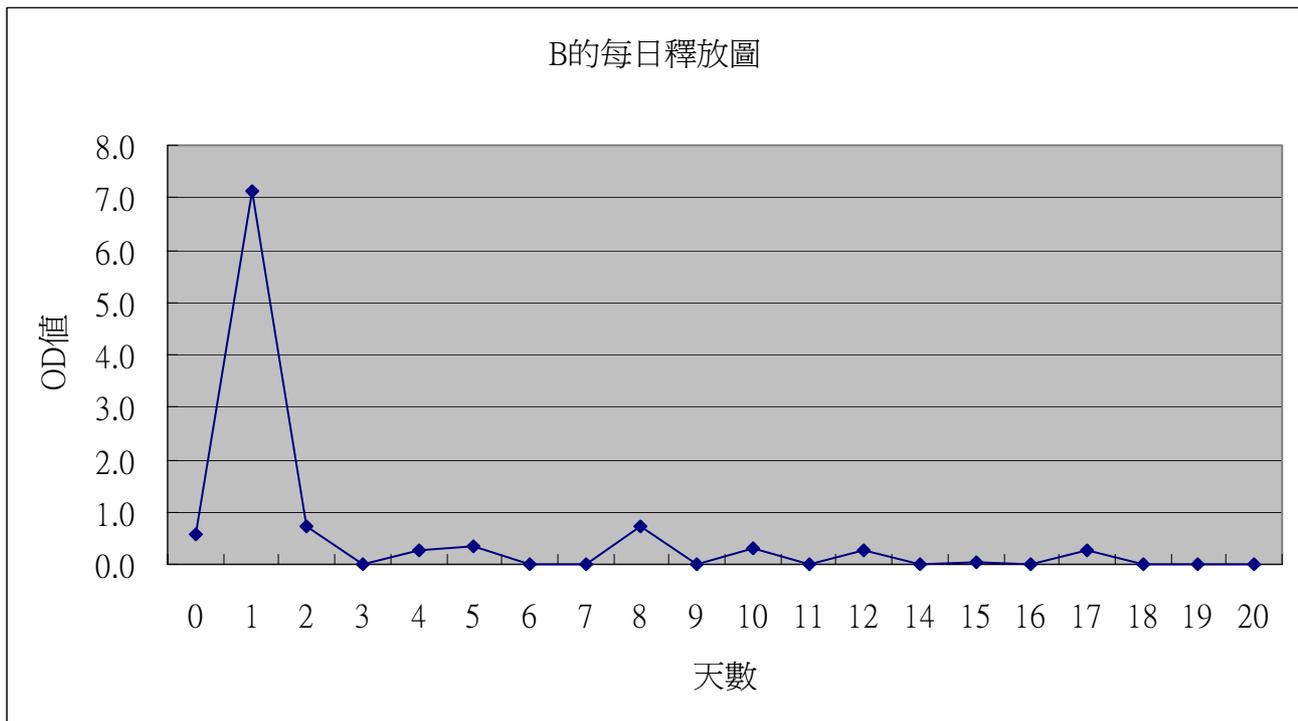


(Fig.4)：試片 (B) 的釋放總量達到最大，為全組之冠，且第一天即已釋放出最高峰，釋放之量亦為全組之冠，持續釋放時間達 20 天。且 20 天後仍持續釋放。此結果符合我們的期望。(B) 試片為 PLA:antibiotic 比例最低者，亦即其抗生素含量最高，且與試片 (A) 比較其釋放表面積又較大，所以應當比其釋放較多的抗生素。

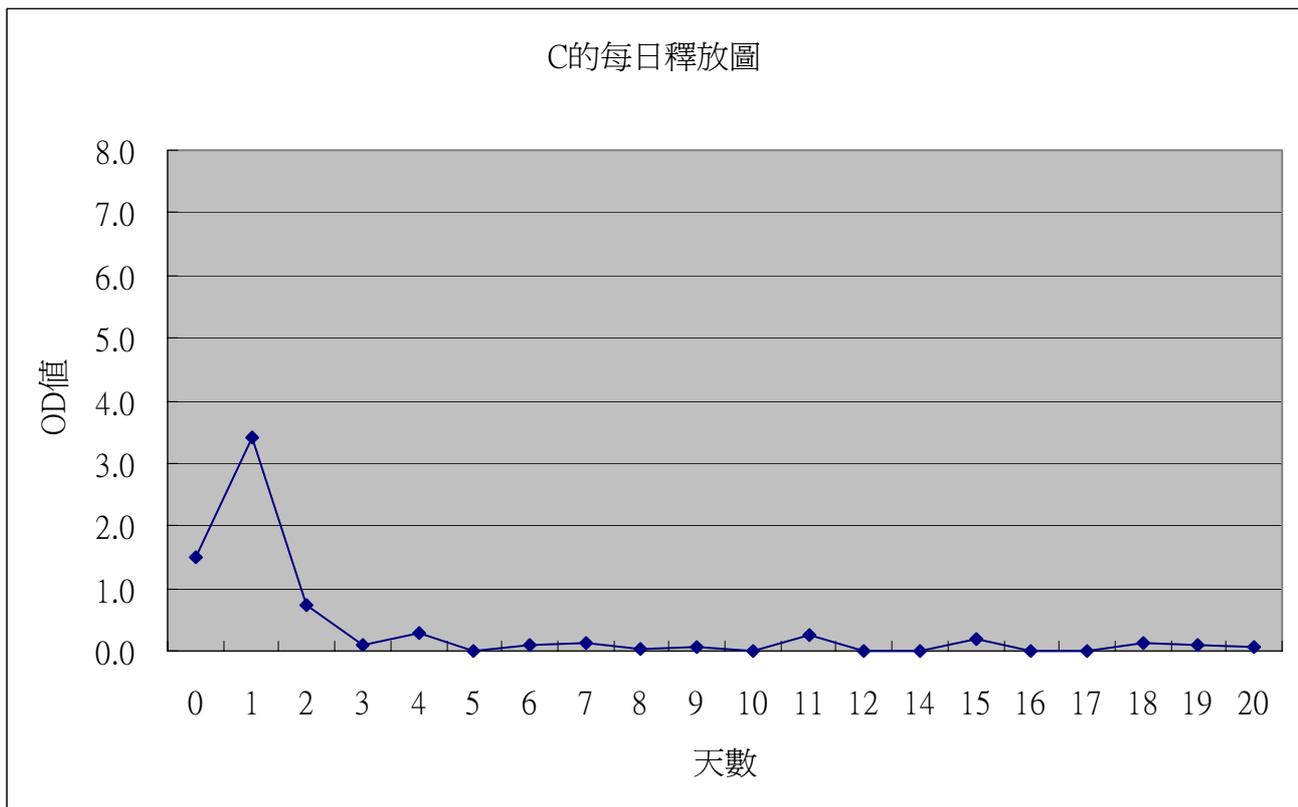


(Fig.5): (A) 組的每日釋放圖，於第 0 天與第 1 天釋放量最高，第 2~20 天藥物之釋放趨向於穩定。

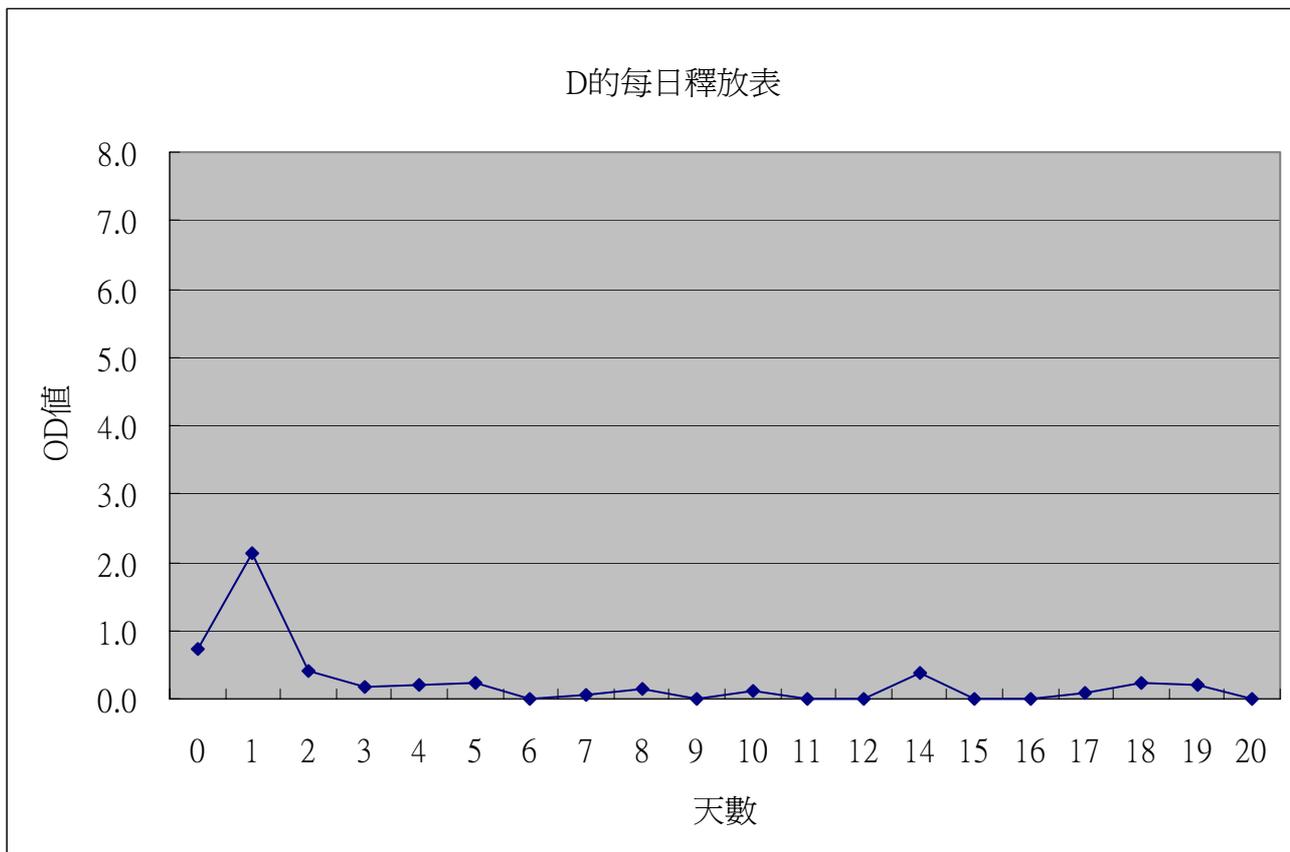
od



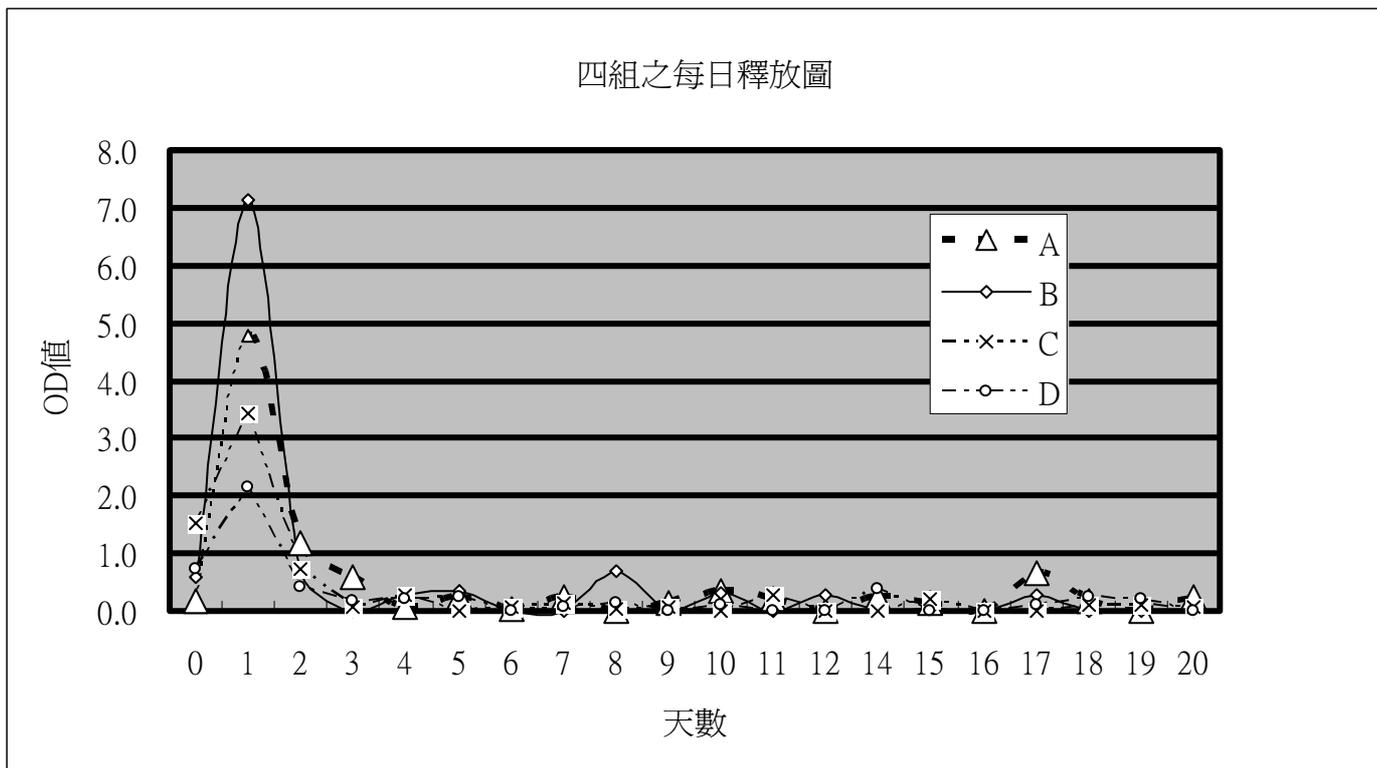
(Fig.6)：(B) 組的每日釋放圖，於第 0 天與第 1 天釋放量最高，第 2~20 天藥物之釋放趨向於穩定。



(Fig.7): (C) 組的每日釋放圖，於第 0 天與第 1 天釋放量最高，第 2~20 天藥物之釋放趨向於穩定。



(Fig.8): (D) 組的每日釋放圖，於第 0 天與第 1 天釋放量最高，第 2~20 天藥物之釋放趨向於穩定。



(Fig.9) :四組試片的每日釋放圖，皆於第 0 天與第 1 天釋放量最高，第 2~20 天藥物之釋放趨向於穩定。

下圖為各試片之浸泡液與之間的抑菌關係（針對 p.g）：

PLA : ANTIBIOTICS

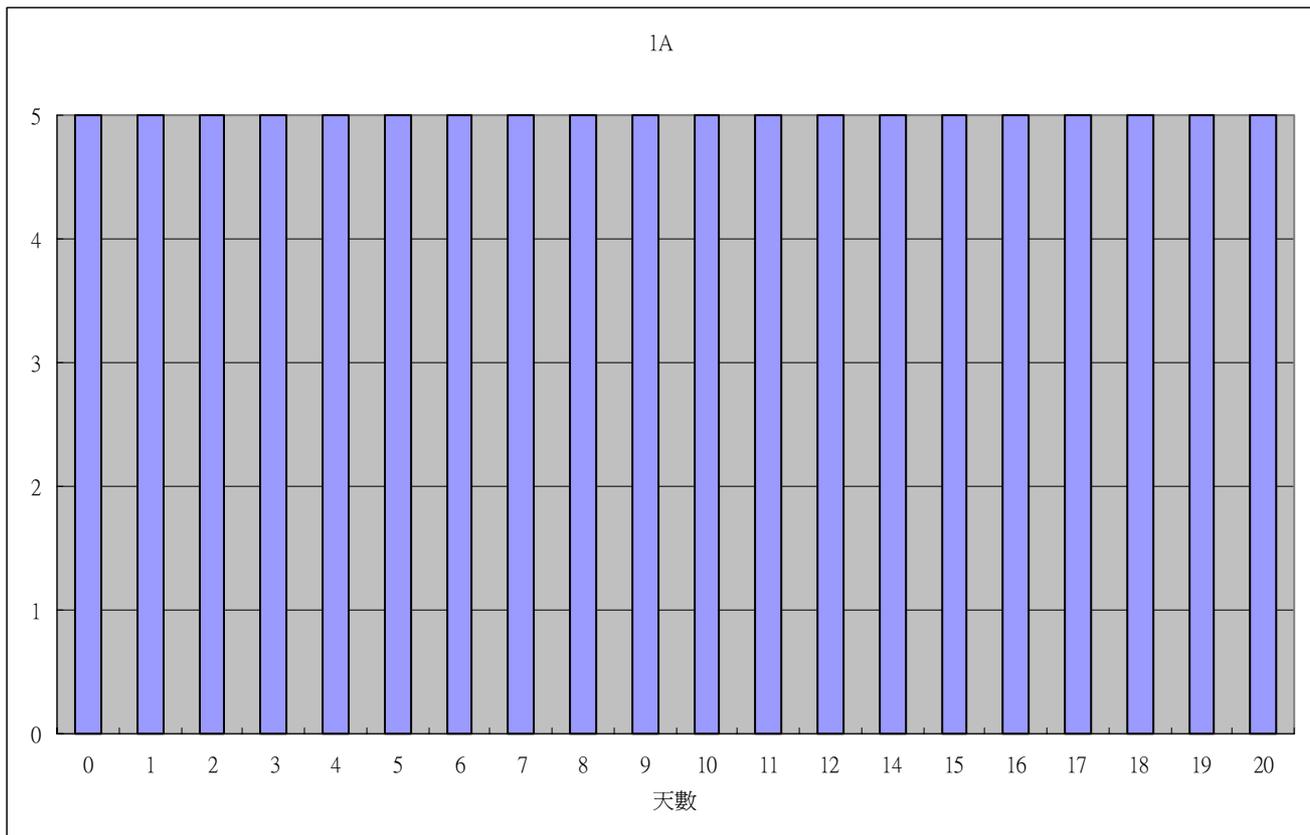
A= 2 : 1

B= 2 : 1

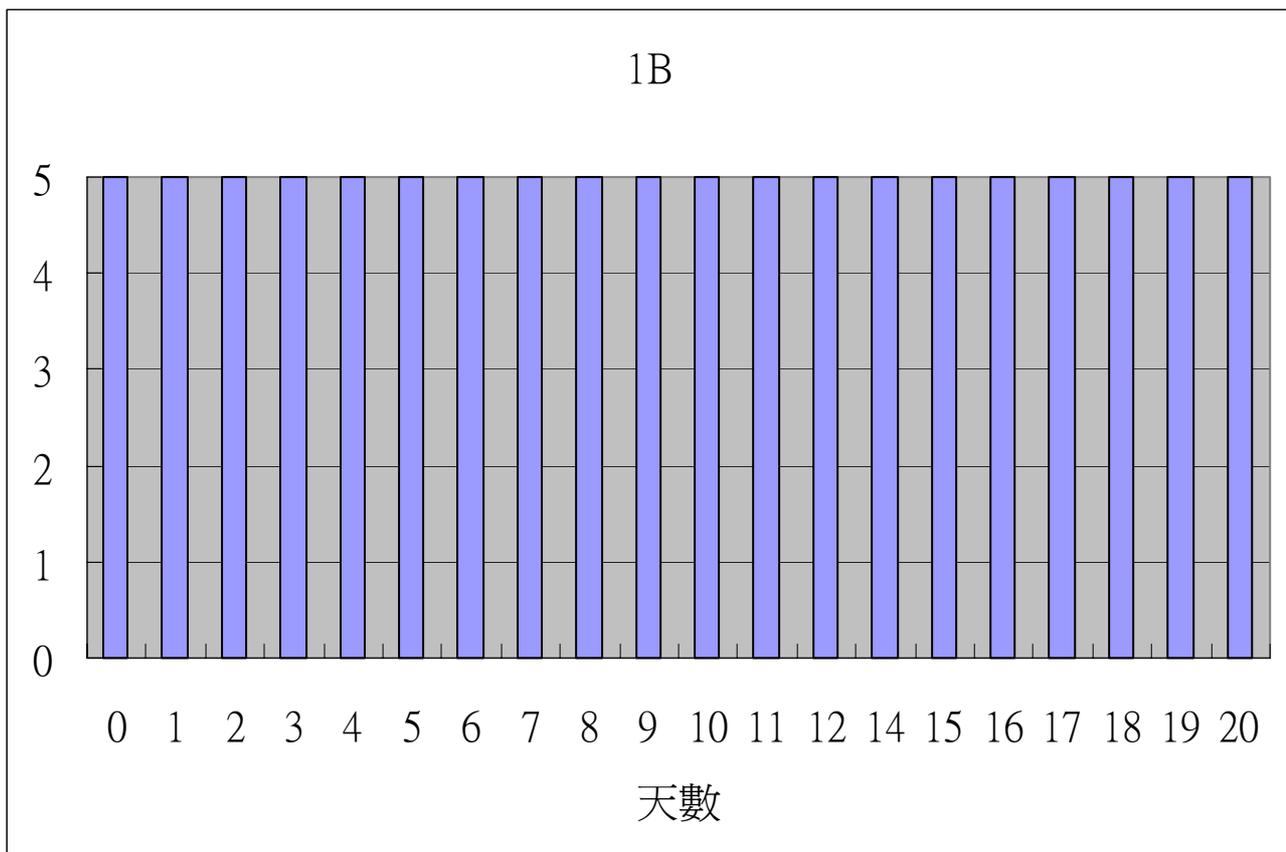
C= 3 : 1

D= 5 : 1

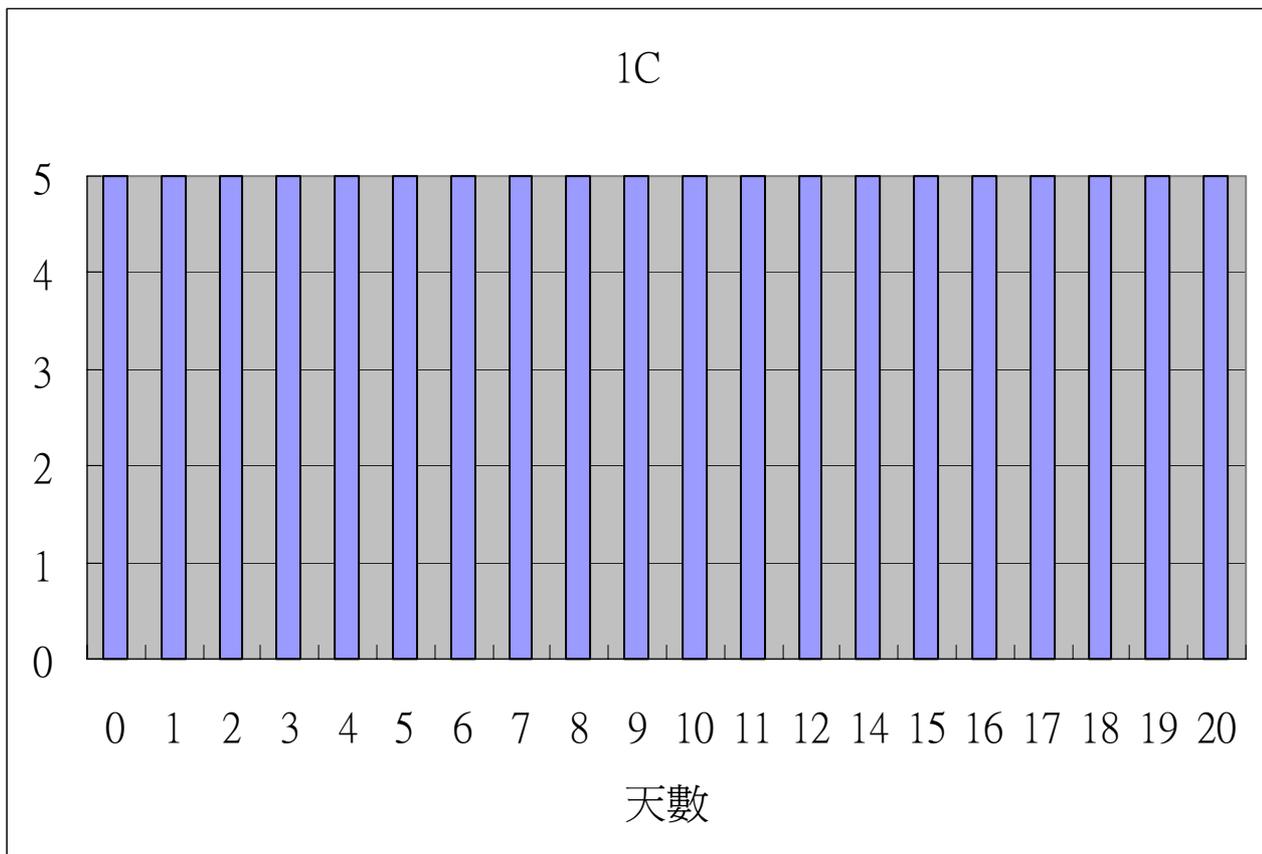
\* X 軸代表天數，Y 軸值 = 1 時表溶液的 1/10 有抑菌效果，= 2 時表溶液的 1/100 有抑菌效果，= 3 時表溶液的 1/1000 有抑菌效果，= 4 時表溶液的 1/10000 有抑菌效果。實驗時菌種與試片溶液之抑菌結果以 OD 值（ $\lambda = 600\text{nm}$ ）測試，我們設定當 OD 值大於 3 時代表試液有意義的抑菌，小於 3 則為有抑菌，等於 0 則為無抑菌情形。



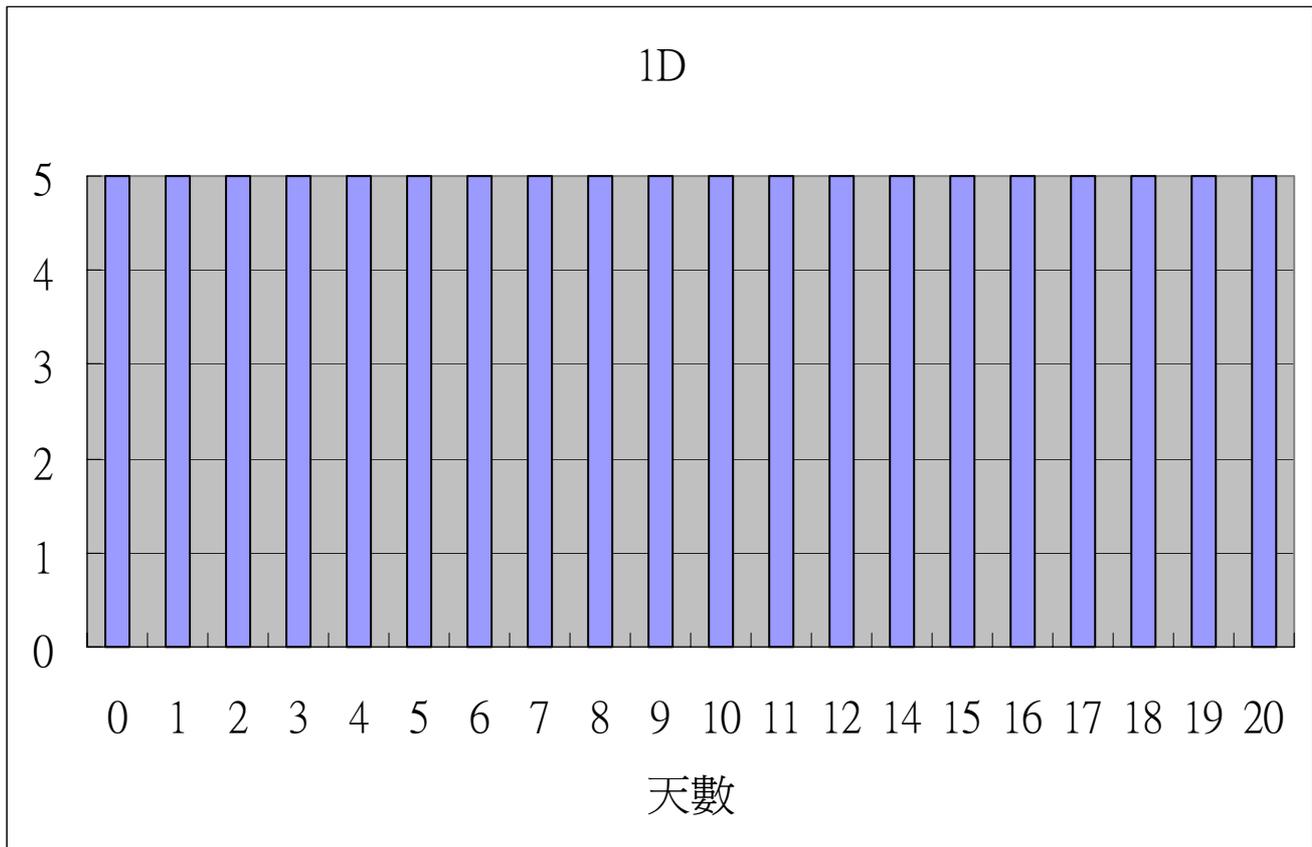
(Fig.10) :爲(1A)試片對 P.g.之抑菌結果。可知其從第 0~20 天皆有抑菌效果。



(Fig.11) :爲(1B)試片對 P.g.之抑菌結果。可知其從第 0~20 天皆有抑菌效果。



(Fig.12) :爲(1C)試片對 P.g.之抑菌結果。可知其從第 0~20 天皆有抑菌效果。



(Fig.13) :爲(1D)試片對 P.g.之抑菌結果。可知其從第 0~20 天皆有抑菌效果。

第二批試片製作如下：

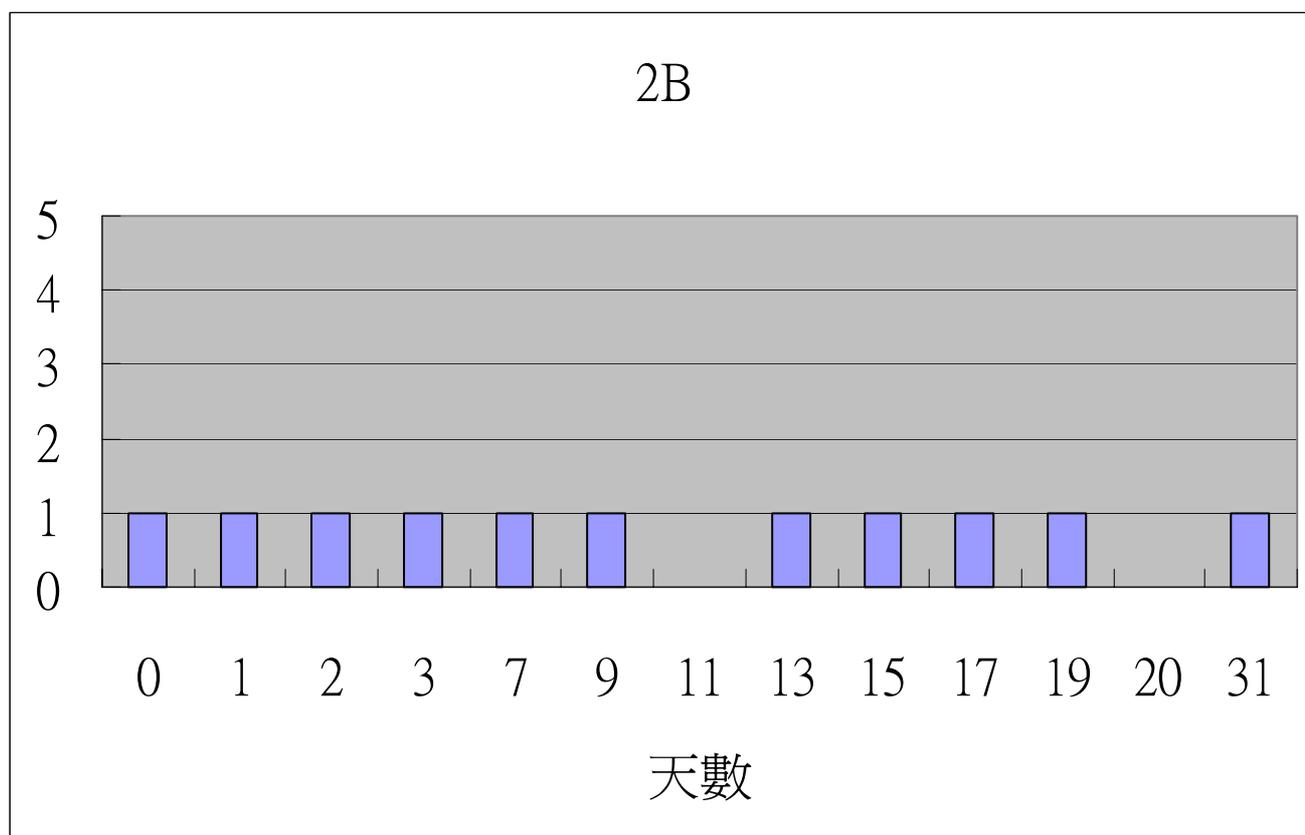
PLA : ANTIBIOTICS

B= 2 : 1

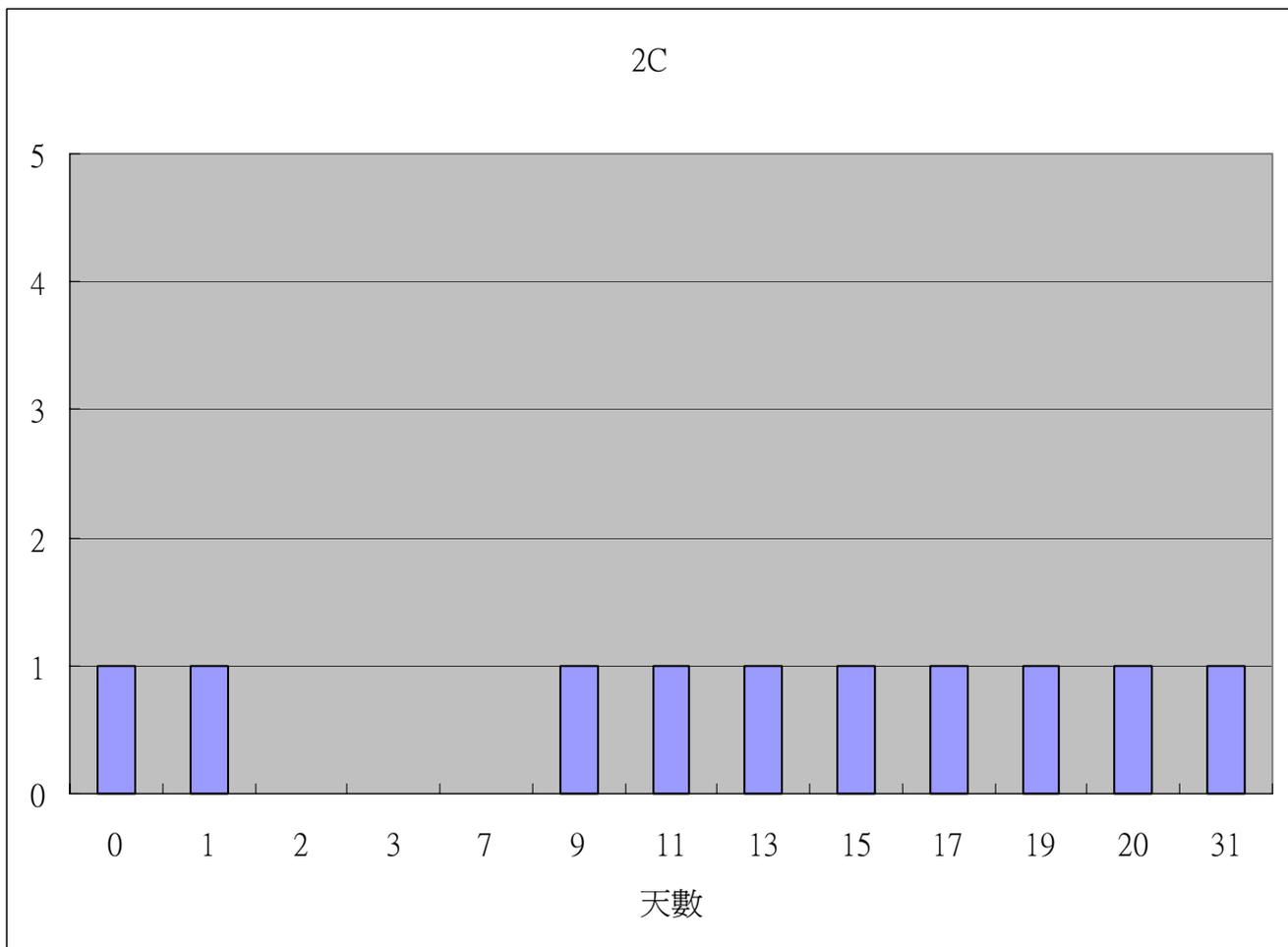
C= 3 : 1

D= 5 : 1

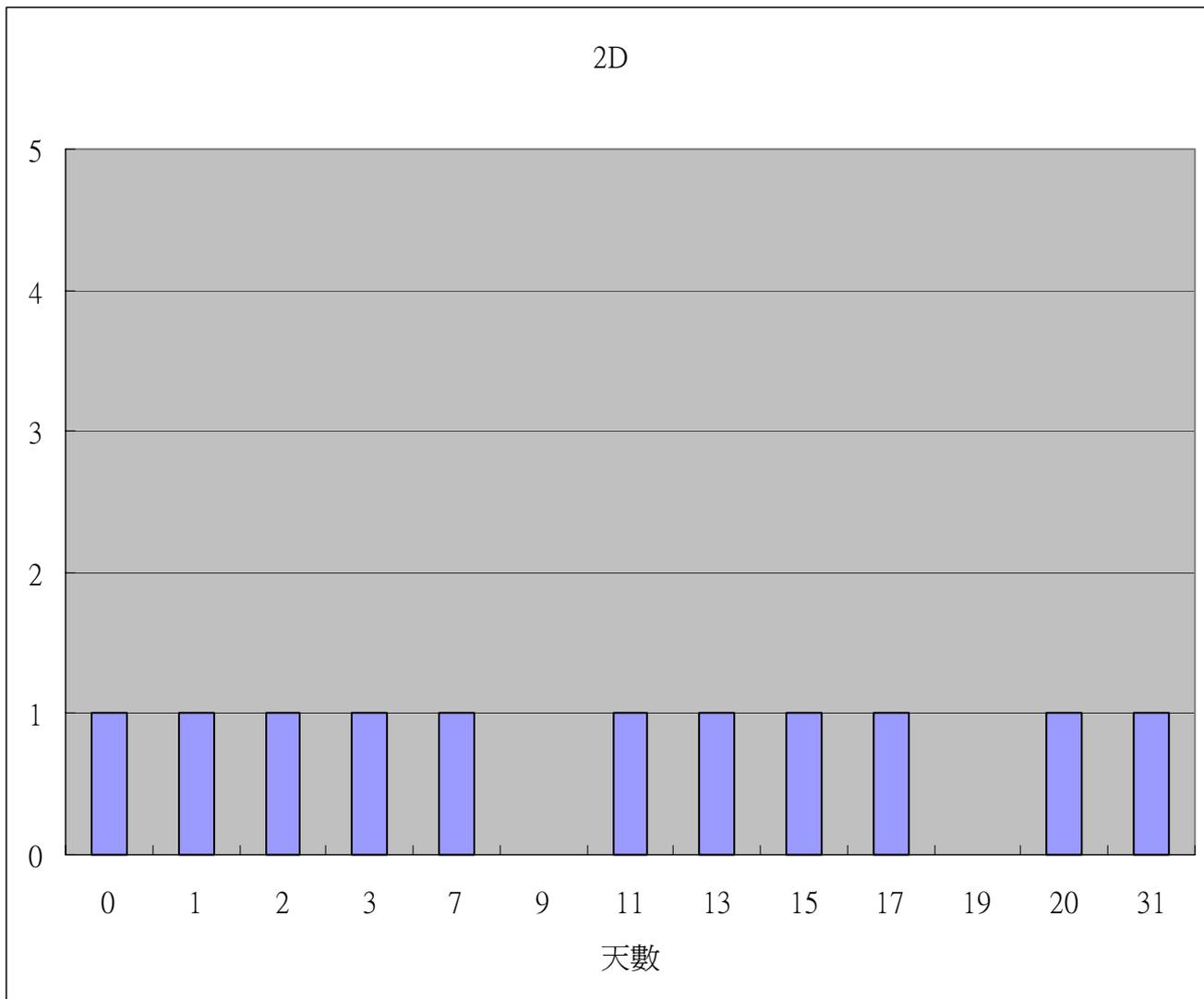
(以下為試片與 *S.s* 之抑菌關係)



(Fig.14)：此圖為 20:10 試片與 *S.s* 之抑菌關係，實驗期間全無抑菌情況發生。



(Fig.15) : 此圖為 30:10 試片與 *S.s.*之抑菌關係，實驗期間全無抑菌情況發生。



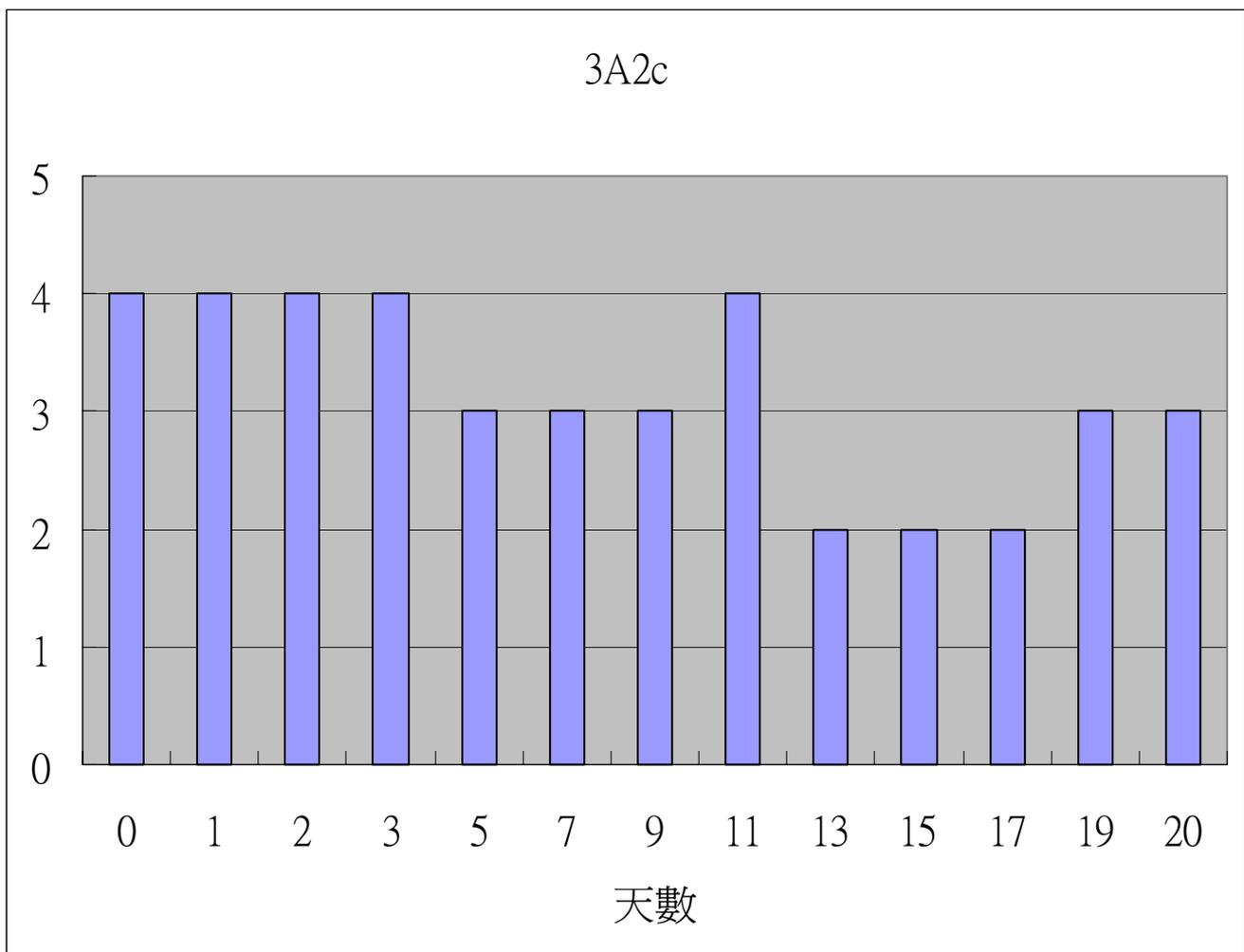
(Fig.16) : 此圖為 50:10 試片與 *S.s.*之抑菌關係，實驗期間全無抑菌情況發生。

第三批試片製作如下：

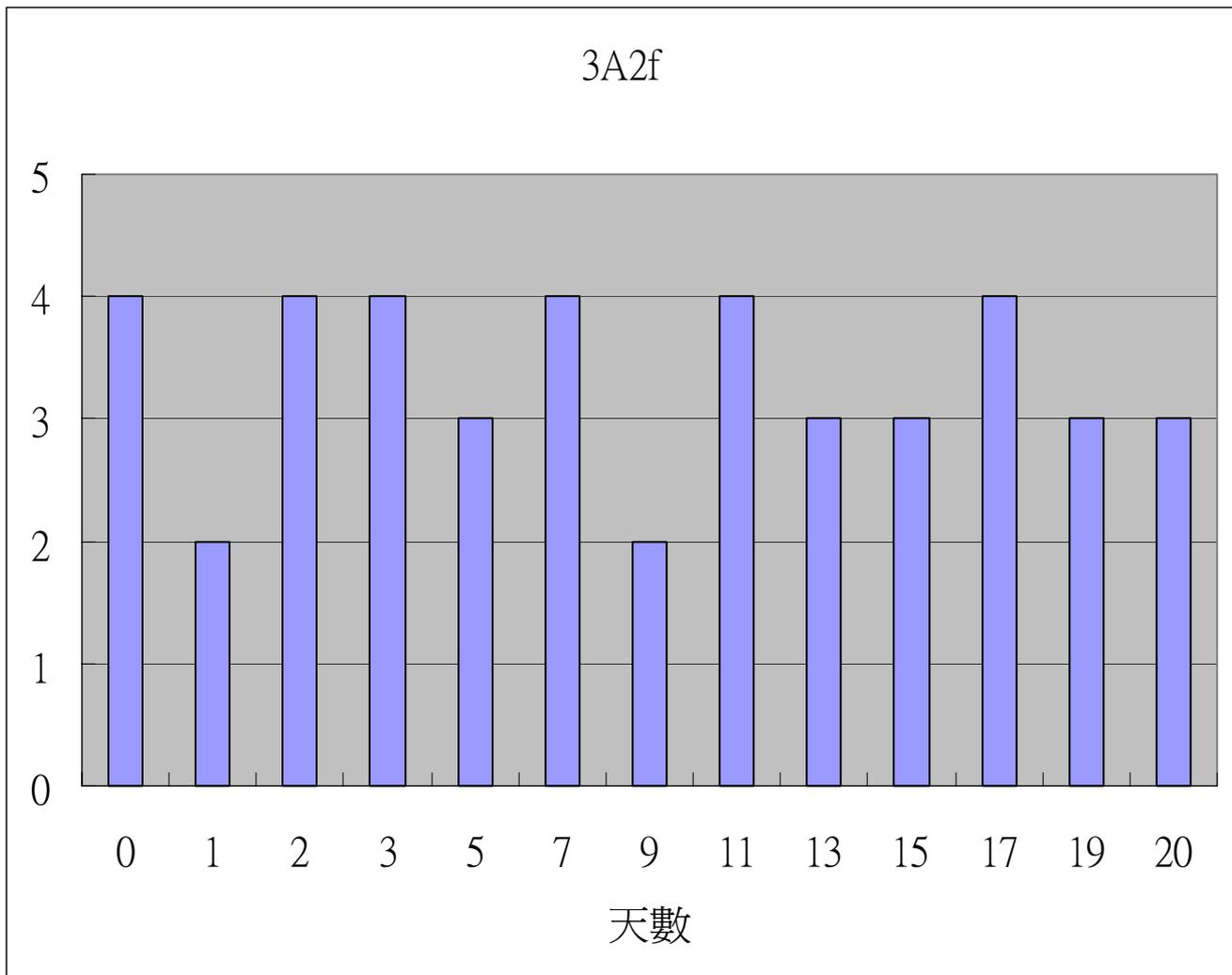
PLA : ANTIBIOTICS

A= 2 : 1 (其中區分為完整的 (C) 與分成四等分的 (F))

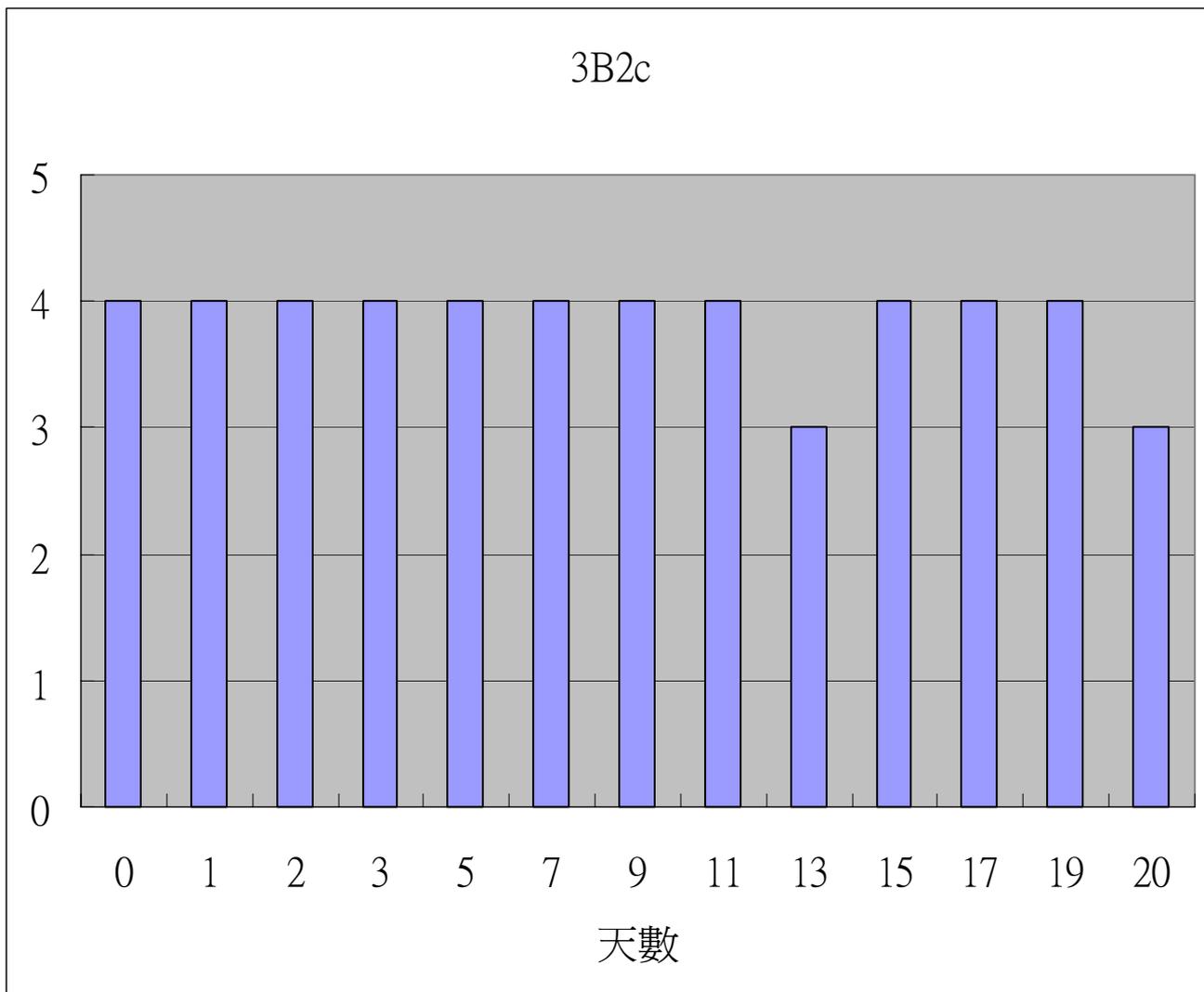
B= 5 : 1 (其中區分為完整的 (C) 與分成四等分的 (F))



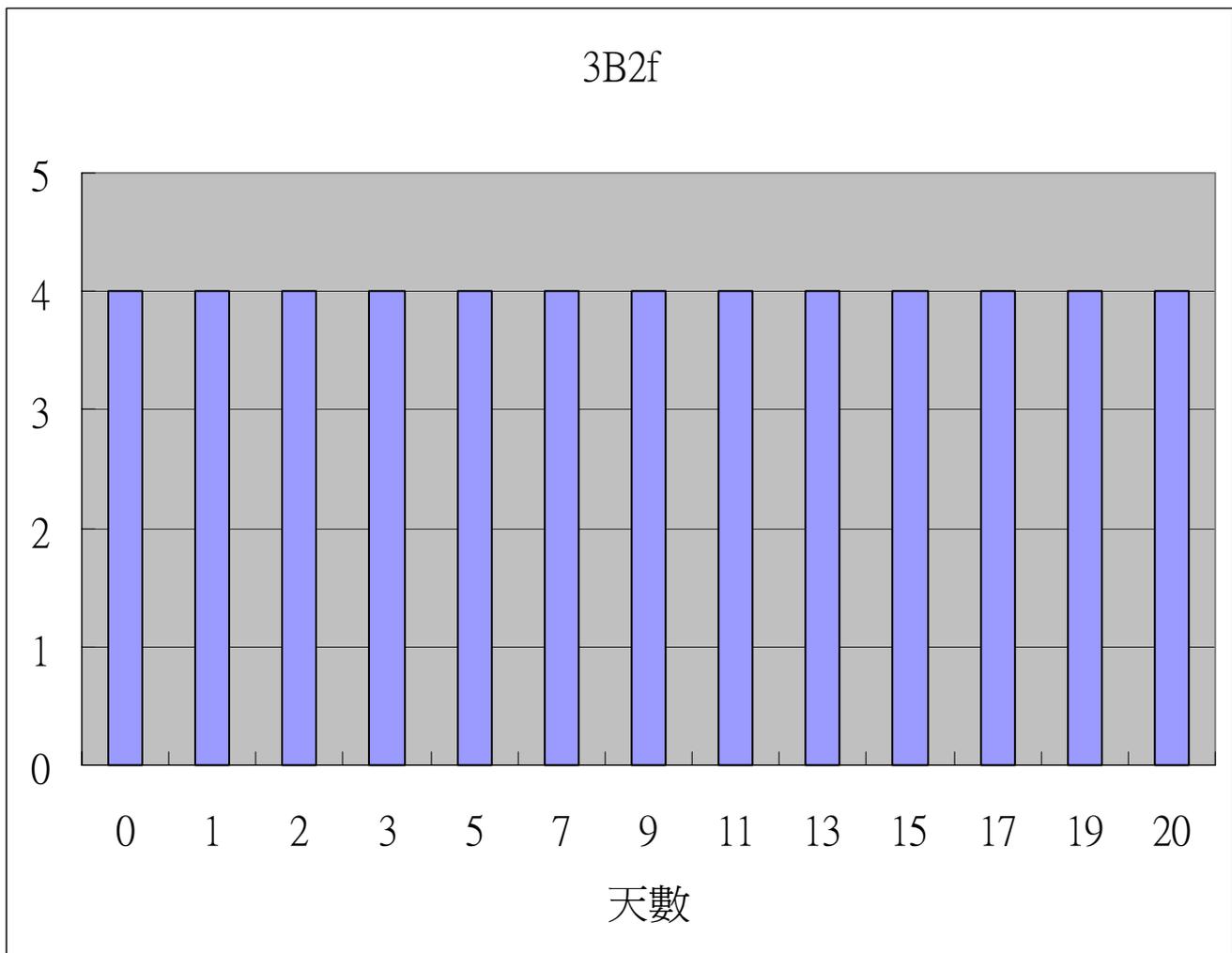
(Fig.17): 此圖為 20:10 完整型試片，其與 P.g.於第 0、1、2、3、5、7、9、11、19、20 天有明顯抑菌關係。



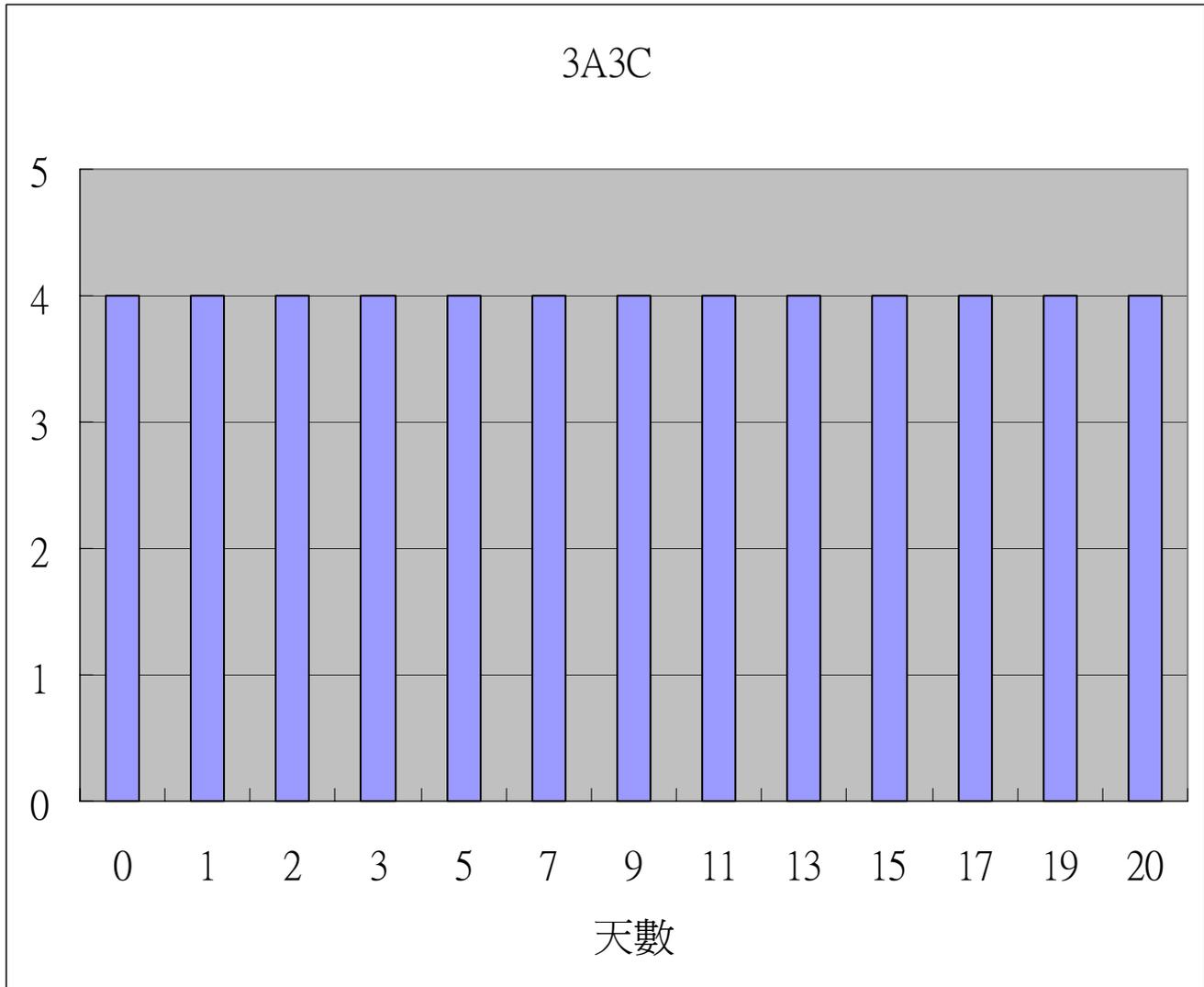
(Fig.18): 此圖為 20:10 四等分型試片，其與 P.g.於第 0、2、3、5、7、11、13、15、17、19、20 天有明顯抑菌關係。



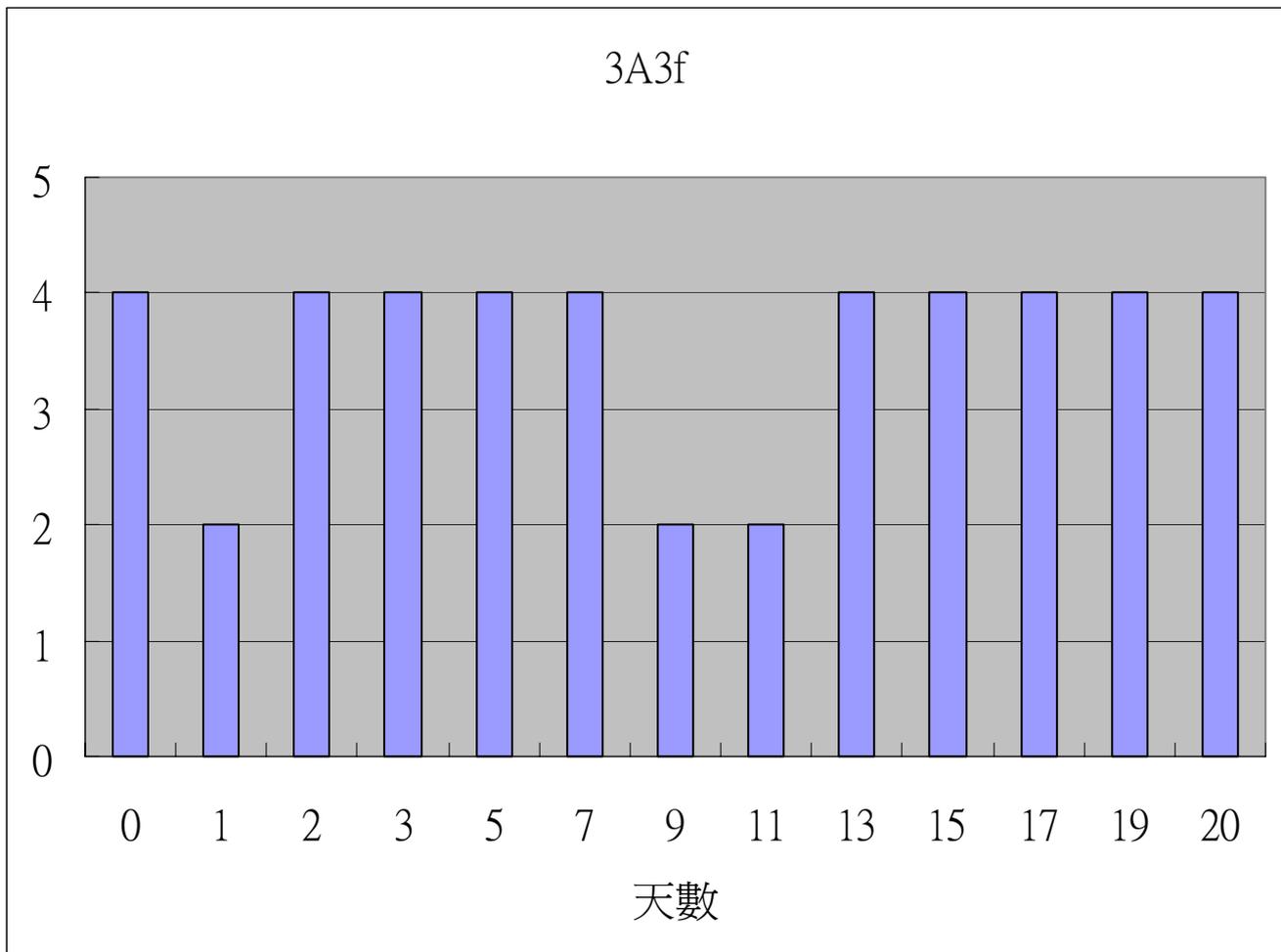
(Fig.19): 此圖為 50:10 完整型試片，其與 P.g.於第 0~20 天皆有明顯抑菌關係。



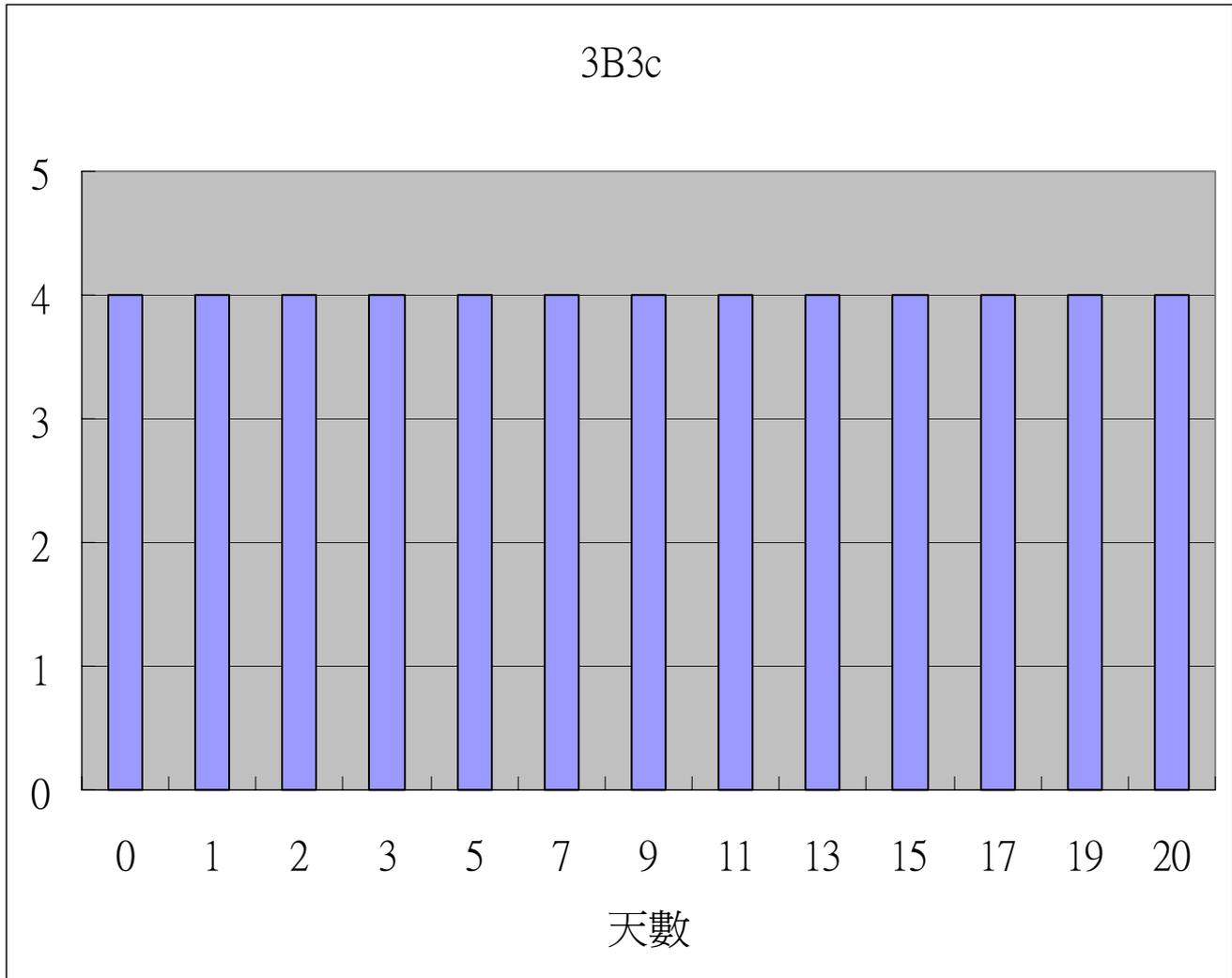
(Fig.20): 此圖為 50:10 四等分型試片，其與 P.g.於第 0~20 天皆有明顯抑菌關係。



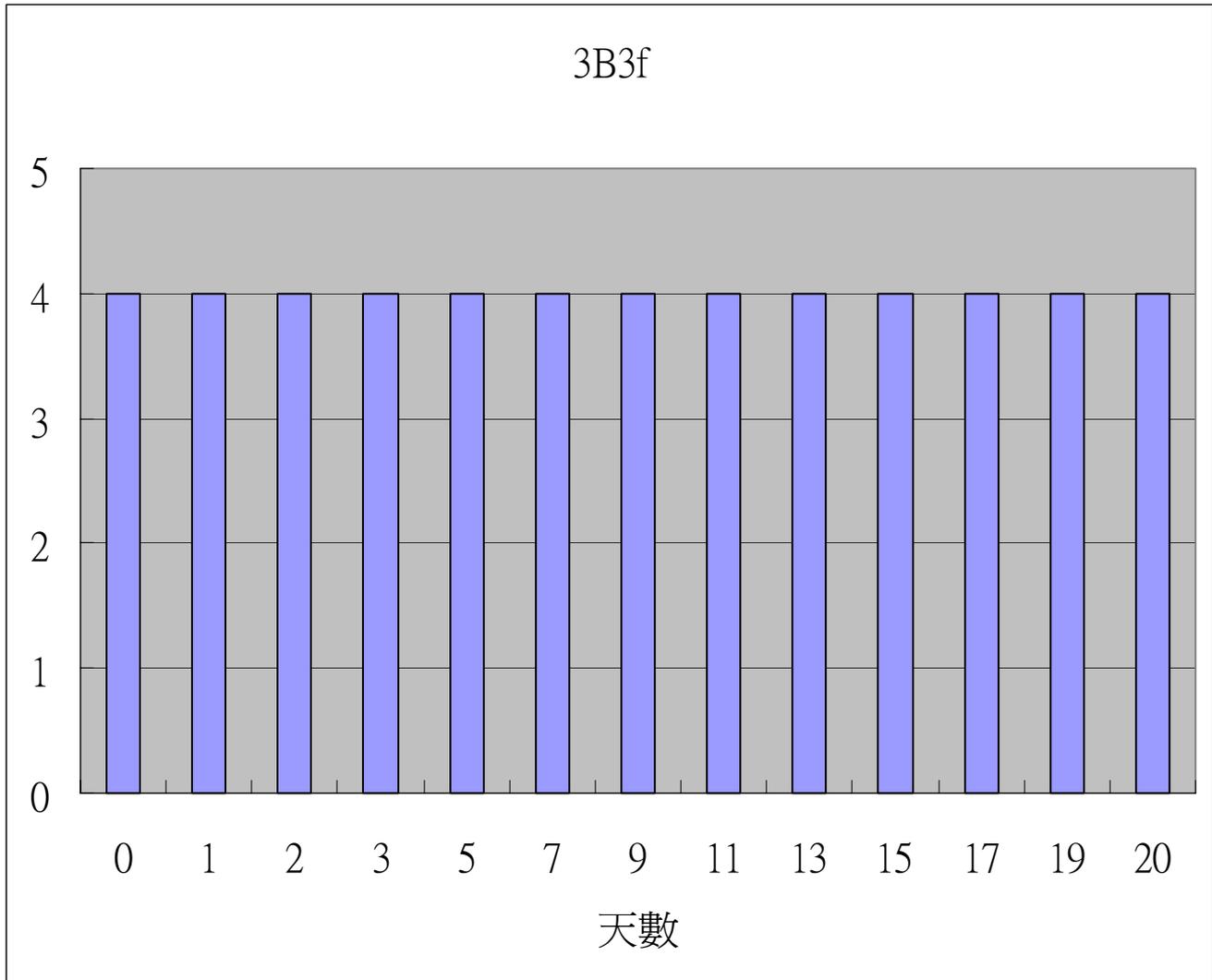
(Fig.21): 此圖為 20:10 完整型試片，其與 P.g.於第 0~20 天皆有明顯抑菌關係。



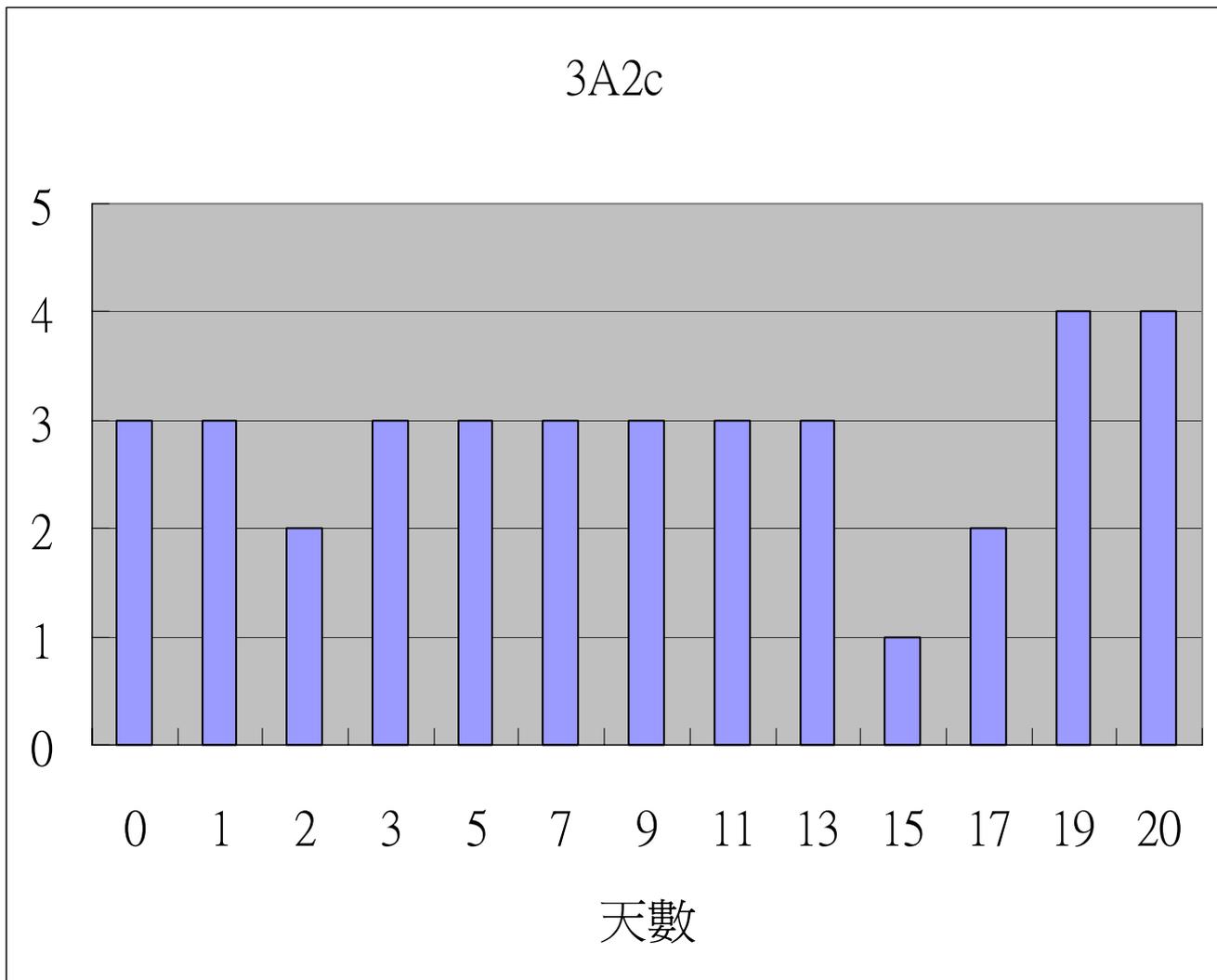
(Fig.22): 此圖為 20:10 四等分型試片，其與 P.g.於第 0、2、3、5、7、13、15、17、19、20 天有抑菌關係。



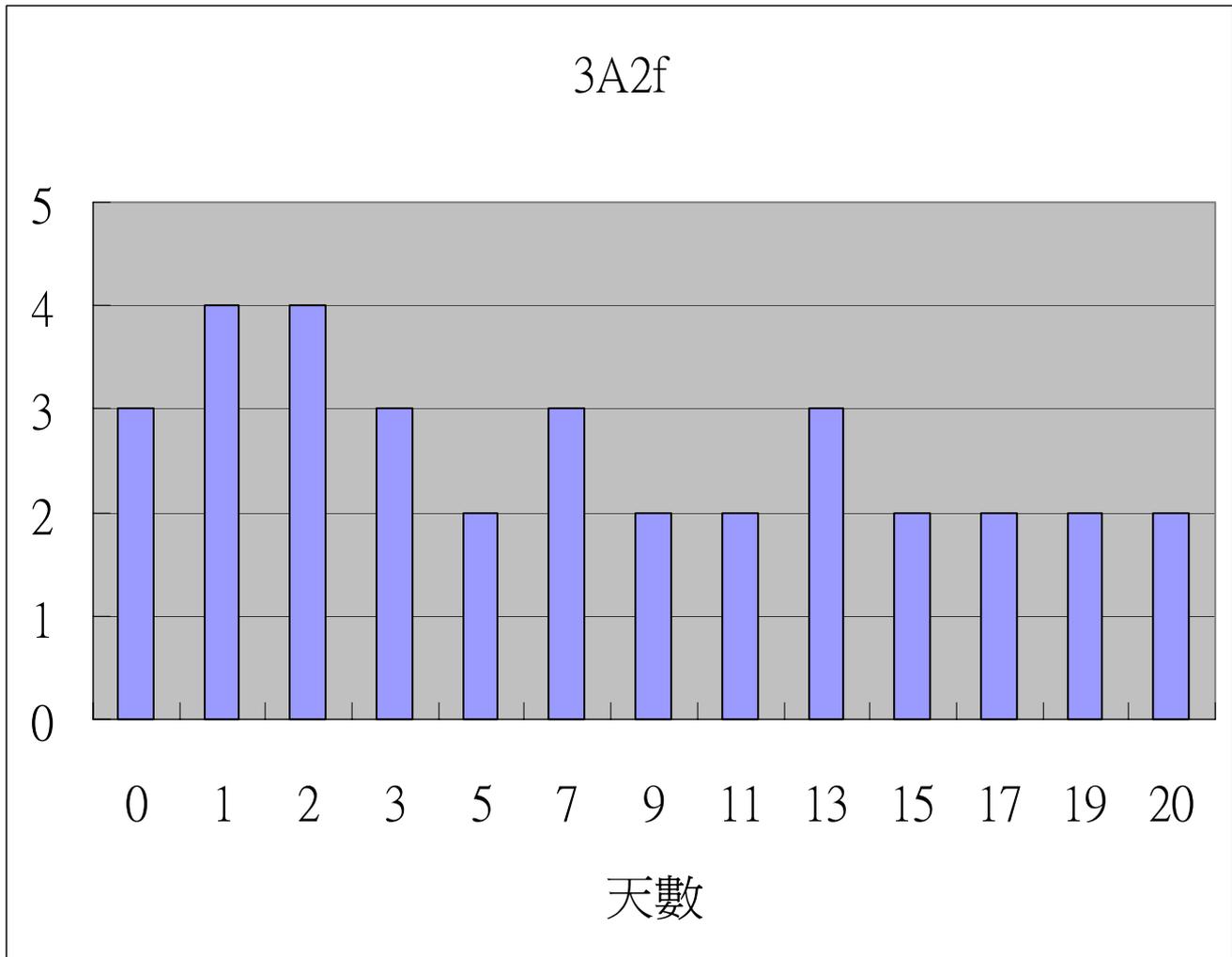
(Fig.23): 此圖為 50:10 完整型試片，其與 P.g.於第 0~20 天皆有明顯抑菌關係。



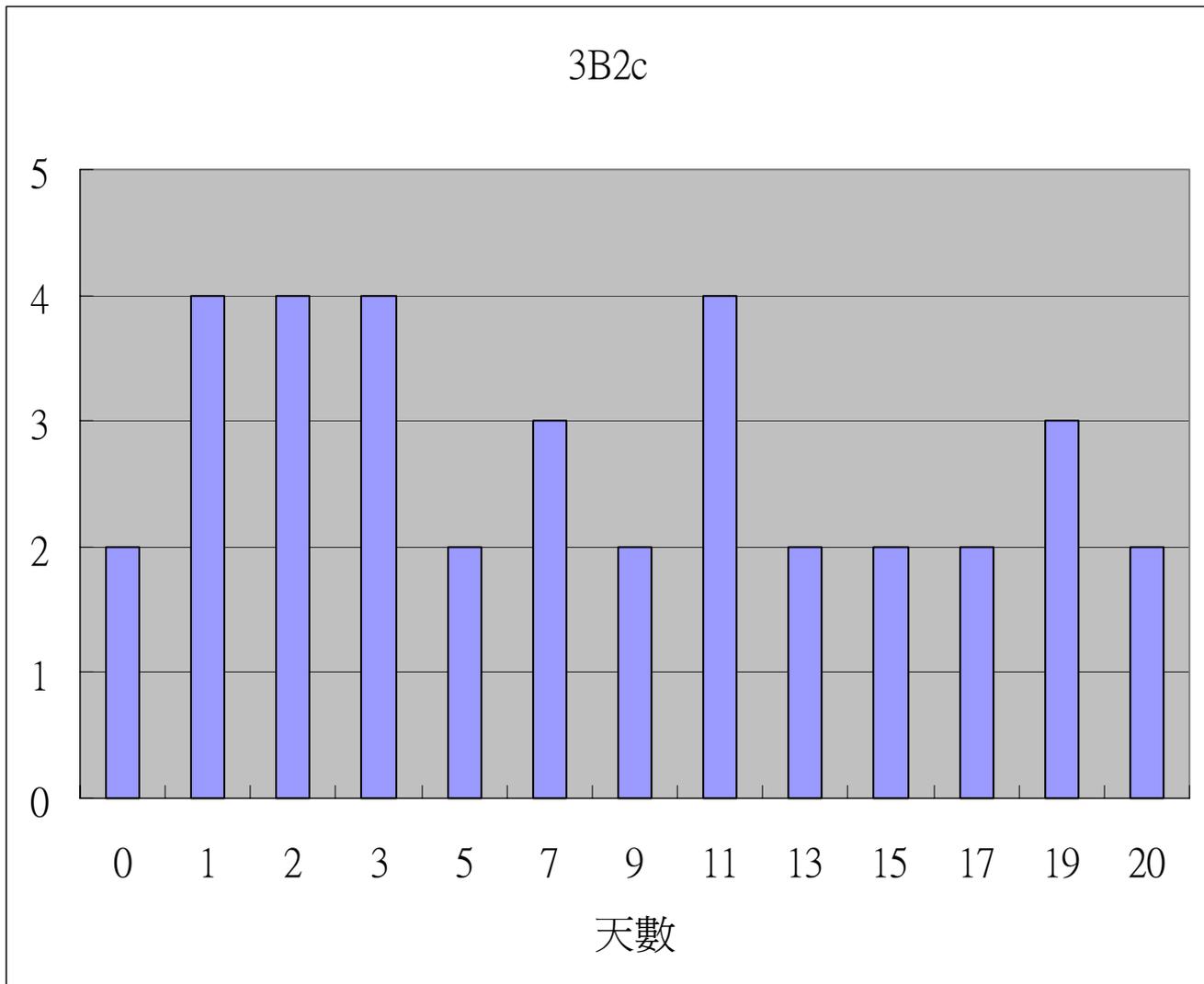
(Fig.24): 此圖為 50:10 四等分型試片，其與 P.g.於第 0~20 天皆有明顯抑菌關係。



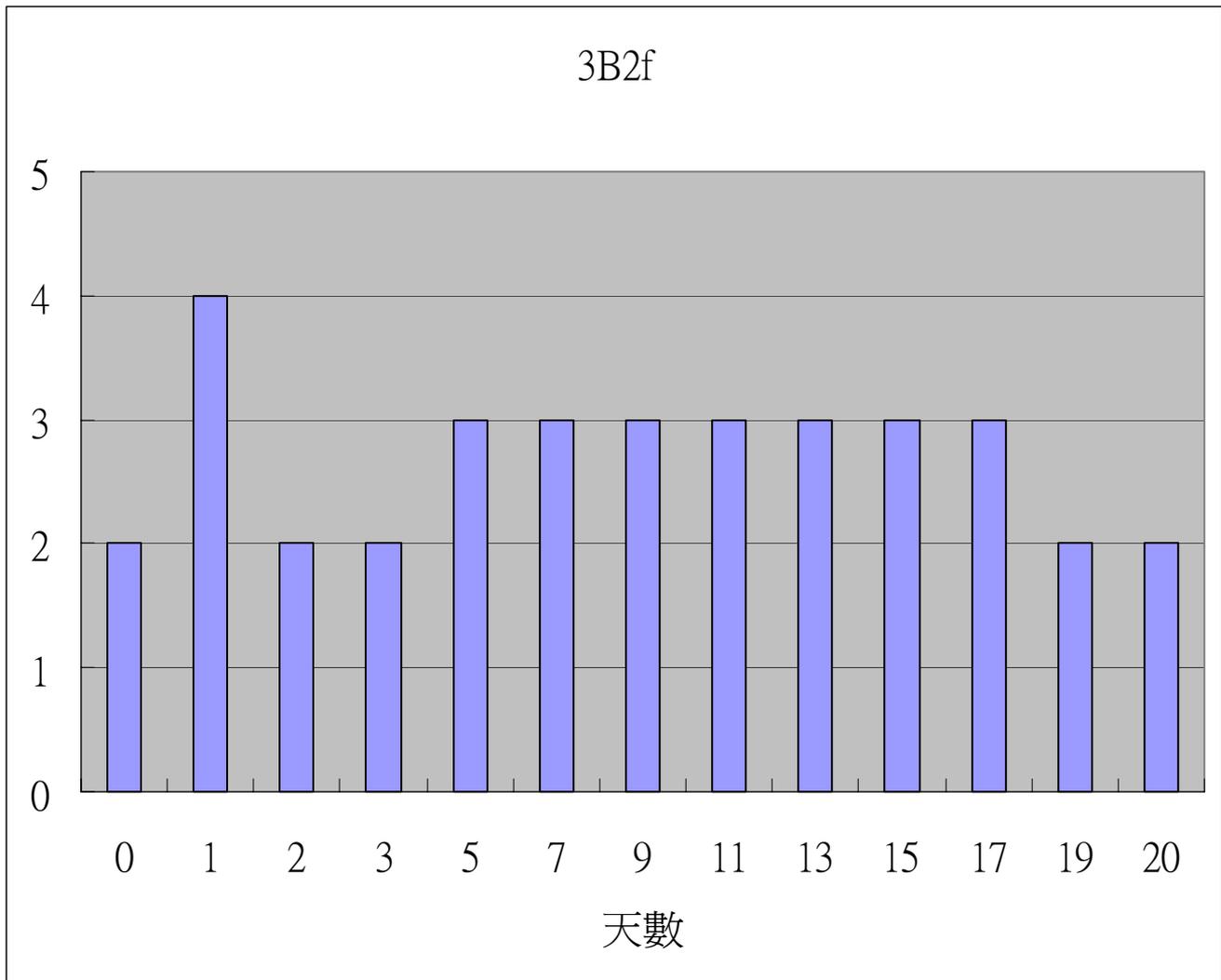
(Fig.25): 此圖為 20:10 完整型試片，其與 A.a.於 0、1、3、5、7、9、11、13、19、20 天有明顯抑菌關係。



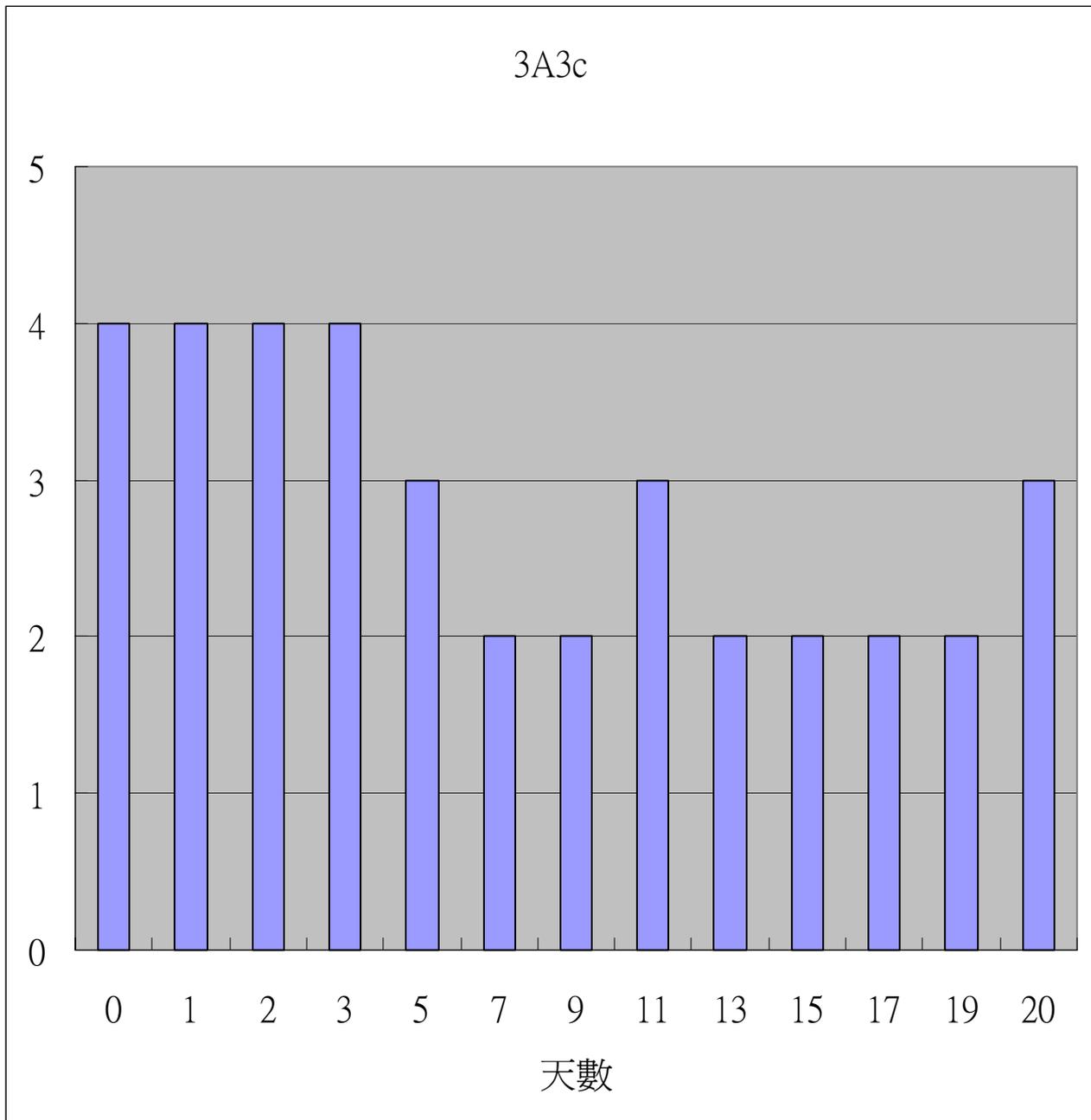
(Fig.26): 此圖為 20:10 四等分型試片，其與 A.a.於 0、1、2、3、7、13 天有明顯抑菌關係。



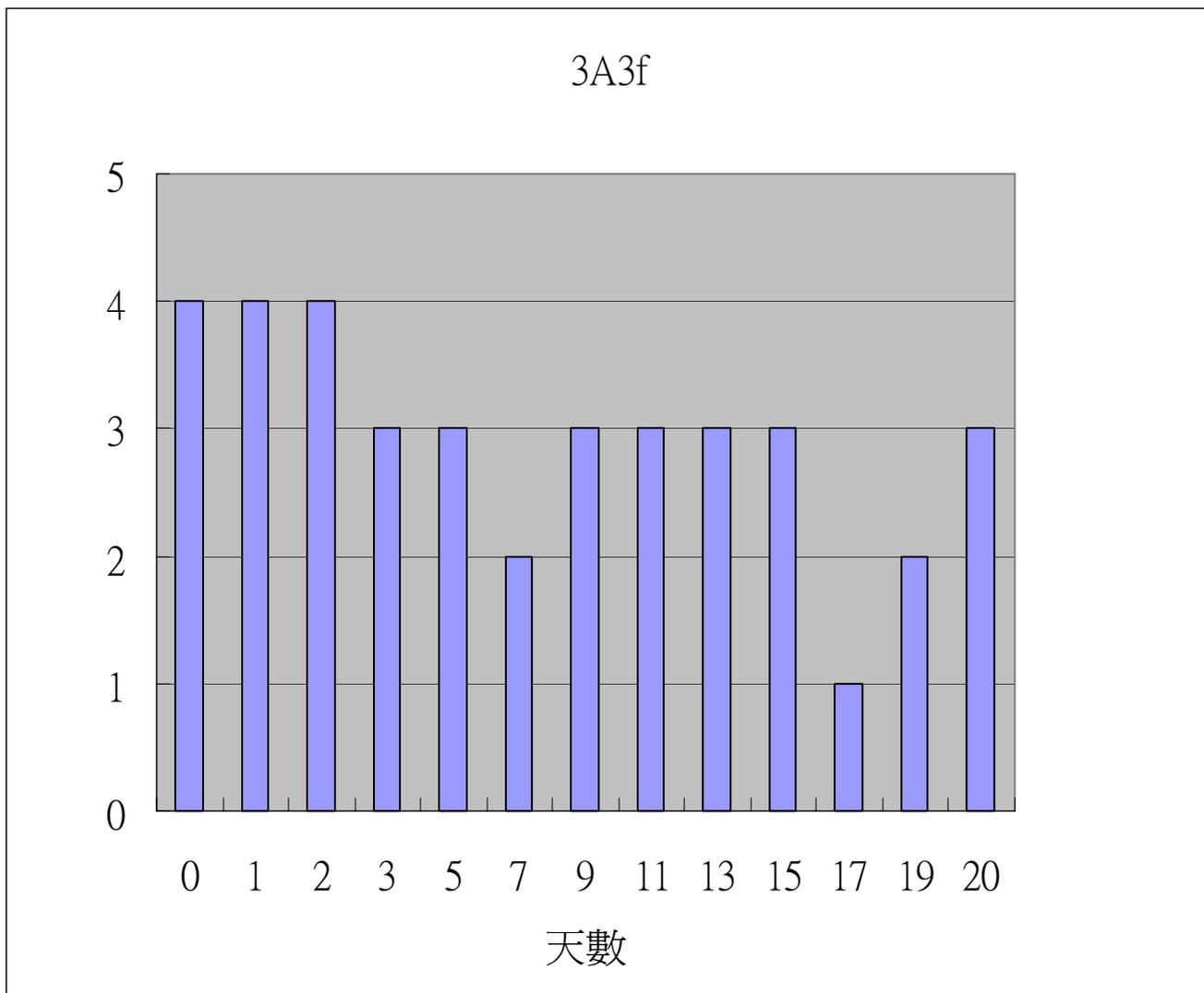
(Fig.27): 此圖為 50:10 完整型試片，其與 A.a.於 1、2、3、11 天有明顯抑菌關係。



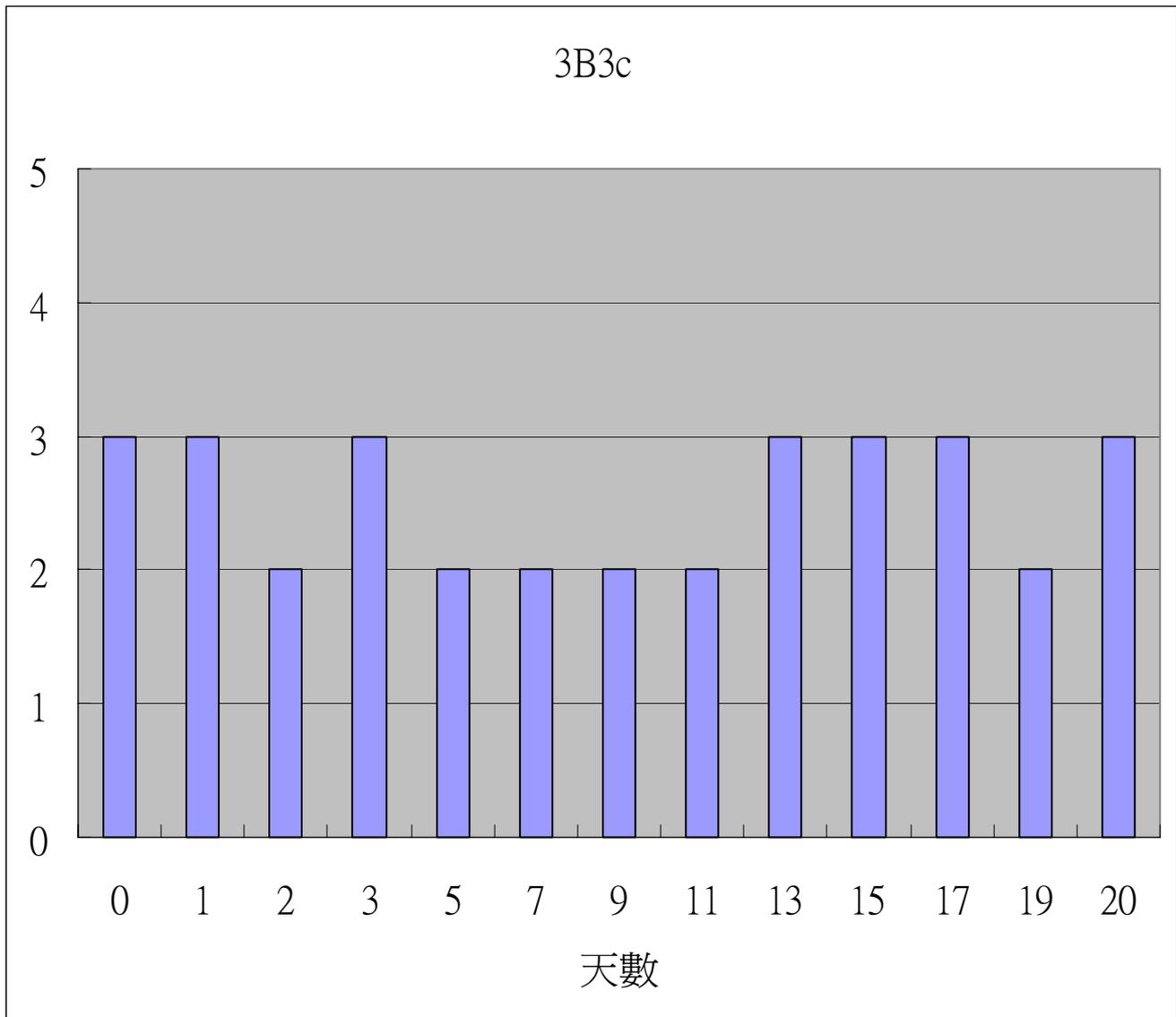
(Fig.28): 此圖為 50:10 四等分型試片，其與 A.a.於 1、5、7、9、11、13、15、17 天有明顯抑菌關係。



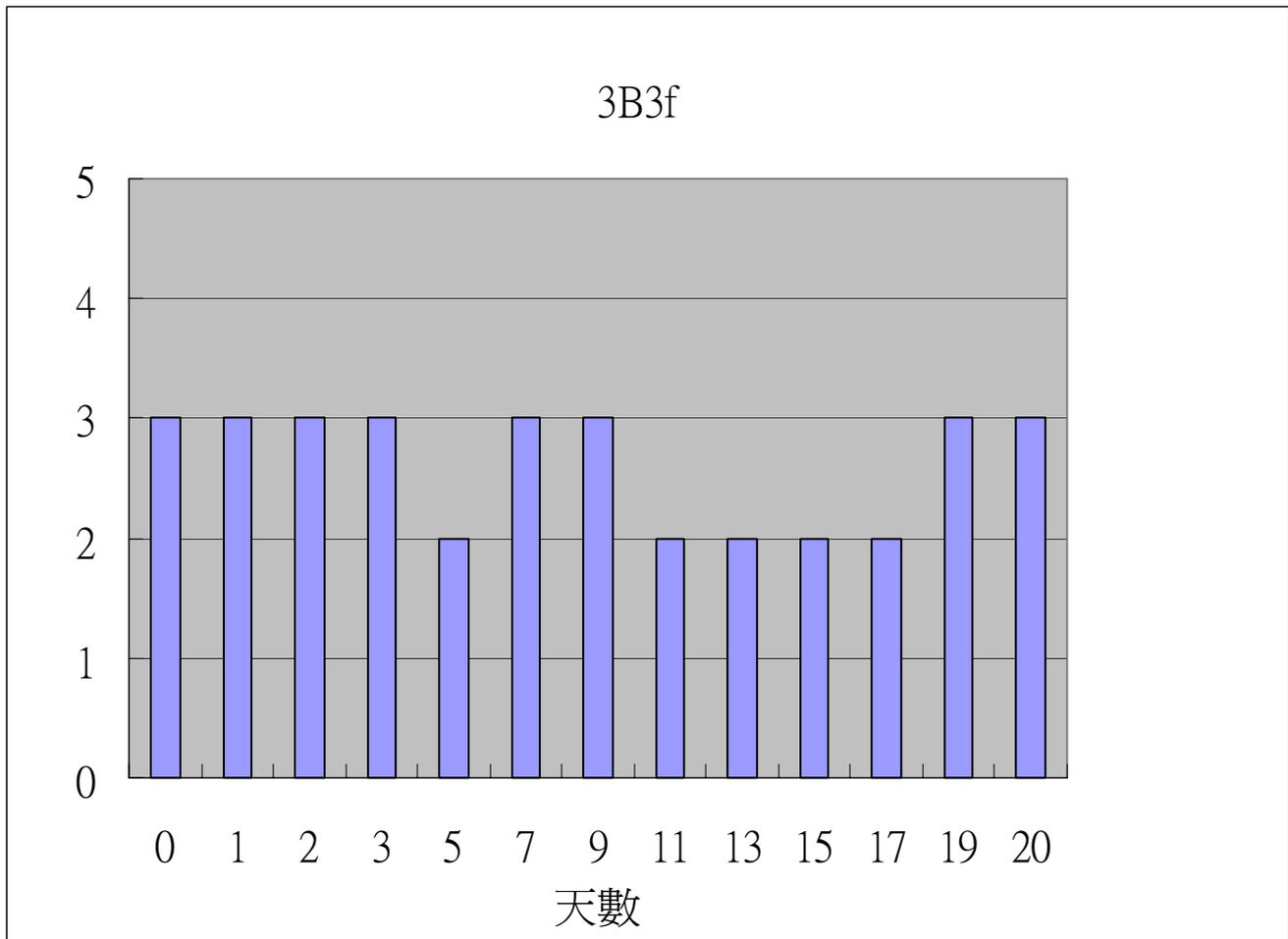
(Fig.29): 此圖為 20:10 完整型試片，其與 A.a.於第 0、1、2、3、5、11、20 天有明顯抑菌關係。



(Fig.30): 此圖為 20:10 四等分型試片，其與 A.a.於 0、1、2、3、5、9、11、13、15、20 天有明顯抑菌關係。



(Fig.31): 此圖為 50:10 完整型試片，其與 A.a.於 0、1、2、3、5、7、9、11、13、15、19 天有明顯抑菌關係。



(Fig32): 此圖為 50:10 四等分型試片，其與 A.a.於 0、1、2、3、7、9、19、20 天有明顯抑菌關係。

## 參考資料

1. Clinical periodontology 8<sup>th</sup> edition  
Carranza.Newman. p640~650
2. Institute of dental materials,Chung Shan medical & dental university, master thesis  
Tzu-Yuan Weng.2001
3. Design and in vitro evaluation of a novel bioadhesive vaginal drug delivery system for clotrimazole . p347~354 J of controlled released Constantia.E.Kast.
4. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease.  
Haffajee,A.D.& Socransky(1994)
5. Risk factors involving host defense mechanisms. In: Bader,J.D.  
Risk assessment in dentistry . University of North Carolina Dnetal Etiology. P94~104  
Page,R.C. (1990)
6. Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antimicrobial agents.  
Antimicrobial agents and chemotherapy 34. p2043~2046. Anwar,H(1990)
7. Clinical periodontology and implant dentistry. 8<sup>th</sup> edition p498~503  
Jan Lindhe
8. MacAlpine R. Magnusson I. Kiger R. Crigger M. Garrett S. Egelberg J. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. I. Bi-weekly irrigation. [Journal Article] Journal of Clinical Periodontology. 12(7):568-77, 1985 Aug
9. Lindhe J. Heijl L. Goodson JM. Socransky SS. Local tetracycline delivery using hollow fiber devices in periodontal therapy. [Journal Article] Journal of Clinical Periodontology. 6(3):141-9, 1979 Jun.
10. Gordon JM. Walker CB. Goodson JM. Socransky SS. Sensitive assay for measuring tetracycline levels in gingival crevice fluid. [Journal Article] Antimicrobial Agents & Chemotherapy. 17(2):193-8, 1980 Feb.
11. Addy M. Alam L. Rawle L. Simple bacteriological methods to assess changes in subgingival microflora produced by metronidazole-containing acrylic strips placed into periodontal pockets. [Journal Article] Journal of Clinical Periodontology. 11(7):467-74, 1984 Aug
12. Robert P,Mauduit J,frank RM, Vert M. Biocompatibility and resorbability of a polylactic acid membrane for periodontal guided regeneration. Biomaterials 1993;14: 353~358
13. Ignatius AA,Claes LE, In vitro biocompatibility of bioresorbable polymers:poly(L,DL-Lactide) and poly(L-Lactide-co-Glycolide).Biomaterials 1996;17:831~839

14. Gopferich A. Mechanism of polymer degradation and erosion.  
Biomaterials 1996;17:103~114
15. Pajukanta,R.Asikainen,S,(1993b)  
In vitro antimicrobial susceptibility of different serotypes of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Scandinavian . J of Dental Research.101,p299~303
16. Hoffler,U,Niederan.  
Susceptibility of Bacterium actinomycetemcomitans to 45 antibodies.  
Antimicrobial agents and chemotherapy 17.p943~946.
17. Weinstein L,Antimicrobial agents:  
Tetracycline and chloramphenicol. In Goodman LS,Gilman A,eds. The pharmacological basis of therapeutics.New York,Macmillan,1975.
18. Bader HI,Goldhaber P. The passage og intravenously administered tetracycline into the gingival sulcus of dogs. J of oral the pharmacol 2:324,1968
19. Baker PJ,Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from the oral cavity.  
J Dent Res 65:1233,1985.
20. Ciancio SG. Antibiotics in periodontal therapy. In Newman MG,Kornman K,Antibiotic antimicrobial use un dental practice 1990.
21. Clinical periodontology and implant dentistry. Lindhe(8<sup>th</sup> edition).p496~503.
- 22.Clinical periodontology and implant dentistry 8<sup>th</sup> p499~503
23. Shih-Jung Liu Steve Wen-Neng Ueng, Err-cheng Chan.  
In Vitro Elution of Vancomycin from Biodegradable Beads  
J Biomed Mater Res(Appl Biomater)48:613-620,1999
24. Caton JG, Ciancio SG, subantimicrobial dose Doxycycline as an adjunct to scaling and root planning:post-treatment effects J Clin Periodontol 2001;28:782-789

私立中山醫學大學口腔醫學研究所

碩士論文

Institute of Oral Medicine, Chung Shan Medical & Dental University

Master Thesis

以聚乳酸為載體的 Doxycycline 局部藥物釋放裝置的生物體外抑  
菌效果研究

The In vitro Temporal Antimicrobial Effects of A Polylactic Acid Based Doxycycline  
Releasing Device

指導教授：陳俊呈博士

研究生： 許文傑      Wen-Chieh Hsu

中華民國九十二年七月