ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะในคลองรากฟัน

ANTIMICROBIAL EFFECTS OF ANTIBIOTIC PASTES IN ROOT CANALS

พรรณปพร พิริยะโยธิน

บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2561

ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะในคลองรากฟัน

พรรณปพร พิริยะโยธิน

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ANTIMICROBIAL EFFECTS OF ANTIBIOTIC PASTES IN ROOT CANALS

PHANPAPORN PIRIYAYOTHIN

A Thesis Submitted in partial Fulfillment of Requirements

for MASTER OF SCIENCE (Clinical Dentistry)

Faculty of Dentistry Srinakharinwirot University

2018

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะในคลองรากฟัน

ของ

พรรณปพร พิริยะโยธิน

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

.....

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.จารุมา ศักดิ์ดี)

..... ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมสินี พิมพ์ขาวขำ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริจันทร์ เจียรพุฒิ)

ชื่อเรื่อง ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะในคลองรากฟัน
ผู้วิจัย พรรณปพร พิริยะโยธิน
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา 2561
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. จารุมา ศักดิ์ดี

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสของยาทรีมิกซ์และออกเมนตินในคลองรากฟัน วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ: ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวจำนวน 70 ซี่ ได้รับการสุ่มคัดฟัน จำนวน 5 ซี่ เป็นกลุ่มควบคุมลบ ฟันที่เหลือจำนวน 65 ซี่ได้รับการเพาะเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากนาน 21 วัน นับจำนวนโคโลนีก่อนและหลังการใส่ยา 14 วัน โดยแบ่งกลุ่มฟันที่ติดเชื้อออกเป็นกลุ่มควบคุมบวก 5 ซี่ กลุ่มยาทรีมิกซ์ 30 ซี่ และยาออกเมนติน 30 ซี่ วิเคราะห์ปริมาณเชื้อที่ลดลงหลังการใส่ยาต่างชนิดด้วยสถิติแมนวิทนีย์ยู ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 และสุ่มฟันในกลุ่มควบคุมหลังการเพาะเชื้อและกลุ่มยา กลุ่มละ 1 ซี่มาตรวจสอบแผ่นชีวภาพของเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด ผลการศึกษา: ทรีมิกซ์และออกเมนตินสามารถลดปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (P value =0.367) ค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (พิสัย: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (พิสัย: 2.56 – 5.91) log CFU/ml ตามลำดับ สรุป: ทรีมิกซ์และออกเมนตินมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากฟัน การใช้ออกเมนตินอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับยาที่ใส่ในคลองราก

คำสำคัญ : ออกเมนติน, เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส, ยาปฏิชีวนะเฉพาะที่, ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์

Title ANTIMICROBIAL EFFECTS OF ANTIBIOTIC PASTES IN ROOT CANALS
Author PHANPAPORN PIRIYAYOTHIN
Degree MASTER OF SCIENCE
Academic Year 2018
Thesis Advisor Jaruma Sakdee , D.M.Sc.

Objectives: This research studied the antimicrobial effects of triple antibiotic and augmentin pastes on *Enteroccocus faecalis* in root canals. Materials and Methods: Seventy single root lower premolars were selected and five teeth were separated in order to create a sterile control group while the remaining sixty five teeth were inoculated with *Enteroccocus faecalis* for twenty-one days. After incubation, colony forming units (CFU) were recorded before and after fourteen days of medication. The inoculated teeth were divided randomly into three groups: group one positive control (n=5), group two triple antibiotic paste (n=30) and group three augmentin paste (n=30). Bacterial reductions were compared between groups of medication using the Mann-Whitney U test. One tooth from the control groups after inoculation and one tooth from the medicated groups were selected randomly to be investigated using scanning electron microscopy. Results: There were no significant differences in terms of bacterial reductions between triple antibiotic and augmentin pastes (P value =0.367) which median $\log_{10}$ reduction were 4.86 (Range: 2.42 – 5.79) and 4.92 (Range: 2.56 – 5.91), respectively. Conclusions: Triple antibiotic and augmentin pastes were equally effective against *Enteroccocus faecalis*. Augmentin could potentially be used as an intracanal medication.

Keyword : Augmentin, Enteroccocus faecalis, Local antibiotic, Triple antibiotics

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ผู้สนับสนุนทุนอุดหนุนงานวิจัย ขอขอบพระคุณ อ.ดร.ทพญ.จารุมา ศักดิ์ดี และ ผศ.ดร.ทพญ.ปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อการปรับปรุงแก้ไขงานวิจัยในครั้งนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์และภาควิชาโอษฐ์วิทยามหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านและบุคลากรประจำภาควิชาทุกท่านที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณนางกนกพร สุขยานันท์ คุณพัชร์ณัฏฐ์ ศรีพอและนายศิริพงศ์ ตั้งประเสริฐ เจ้าหน้าที่คณะทันตแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้ความช่วยเหลือในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในทุกๆด้านทำให้งานวิจัยสำเร็จด้วยดี

ท้ายที่สุดขอขอบคุณบิดา มารดา เพื่อนๆ และบุคคลรอบข้างทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนจนทำให้สามารถสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

พรรณปพร พิริยะโยธิน

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

คำถามวิจัย 3

ความมุ่งหมายของการวิจัย 3

ความสำคัญของการวิจัย 3

ขอบเขตของวิจัย 4

กลุ่มประชากร 4

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย 4

ตัวแปรที่ศึกษา 4

นิยามศัพท์เฉพาะ 4

กรอบแนวคิดการวิจัย 4

สมมติฐานการวิจัย 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

ชนิดของเชื้อภายในคลองราก 6

การใส่ยาในคลองรากฟัน 8

การใช้ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ในงานรักษาคลองรากฟัน 10
ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ 11
ออกเมนติน 13
กระสายยาของยาปฏิชีวนะ 15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 16
การกำหนดกลุ่มประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง 16
กลุ่มประชากร 16
การเลือกกลุ่มตัวอย่าง 16
การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 16
การเตรียมฟัน 16
การเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟัน 17
การเก็บเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น 17
การเตรียมยาที่ใส่ในคลองรากฟัน 18
ขั้นตอนการกำจัดเชื้อ 18
การเก็บเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย 18
การตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด 19
การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล 19
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 20
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย 21
ผลการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด 21
ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ 25
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 27
อภิปรายผลการวิจัย 27

สรุปผลการวิจัย 30
ข้อเสนอแนะ 31
บรรณานุกรม 32
ภาคผนวก 40
ประวัติผู้เขียน 55

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสก่อนและหลังการรักษาในหน่วย log CFU/ml 25

ตาราง 2 การเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ลดลง (log_{10} reduction) ระหว่างกลุ่มยา..... 26

ตาราง 3 ร้อยละของจำนวนซี่ฟันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 26

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย 4

ภาพประกอบ 2 ภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรสีแดงชี้เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่ผิวคลองรากฟัน (ก) และในท่อเนื้อฟัน (ข) ของกลุ่มควบคุมบวก ที่กำลังขยาย 7500 และ 5000 เท่าตามลำดับ ลูกศรสีน้ำเงินชี้ท่อเนื้อฟันที่ไม่พบเชื้อของกลุ่มควบคุมลบ (ค) ที่กำลังขยาย 5000 22

ภาพประกอบ 3 ภาพท่อเนื้อฟันส่วนคลองรากในแนวดิ่ง (กและข) และแนวตัดขวาง (คและง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรสีแดงชี้กลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส กลุ่มยาทรีมิกส์ (กและค) กลุ่มออกเมนตินในแนวดิ่ง (ขและง) ที่กำลังขยาย 5000 เท่า. 24

ภาพประกอบ 4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ก่อนและหลังการรักษา 25

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

การติดเชื้อจุลชีพเป็นสาเหตุหลักของการเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อในที่สามารถลุกลามนำไปสู่การตายของเนื้อเยื่อในและการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากได้ [1] โดยการติดเชื้อในคลองรากแบบปฐมภูมิ (Primary root canal infection) เกิดจากการที่จุลชีพหลายสายพันธุ์สร้างชุมชนและเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อในที่ตายแล้ว มีเชื้อกลุ่มทนอากาศไม่ได้ (Anaerobic bacteria) ได้แก่ เปปโตสเตปโตคอคคัส (Peptostreptococcus) พรีโวเทลลา (Prevotella) พอร์ไฟโรโมแนส (Porphyromonas) ฟิวโซแบคทีเรียม (Fusobacterium) ทรีโปนีมา (Treponema) ยูแบคทีเรียม (Eubacterium) และแคมไพโลแบคเตอร์ (Campylobacter) เป็นกลุ่มหลักร่วมกับเชื้อกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobic bacteria) และเชื้อที่ทนอากาศได้อย่างสเตรปโตคอคคัส (Streptococcus) [2]

ดังนั้นเป้าหมายสำคัญในการรักษาคลองรากคือการกำจัดเชื้อในระบบคลองรากฟันให้มากที่สุดด้วยขั้นตอนการรักษาคลองรากฟันซึ่งประกอบด้วยการเตรียมคลองราก การใส่ยาภายในคลองราก และการอุดคลองราก เพื่อเป็นการป้องกันและรักษาการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน[3] อย่างไรก็ดียังไม่มีวิธีการใดที่สามารถกำจัดเชื้อในระบบคลองรากได้ทั้งหมด ยังสามารถพบเชื้อคงเหลือแทรกตัวอยู่ในท่อเนื้อฟันภายหลังการทำความสะอาด[4] นอกจากนี้อาจพบอุปสรรคในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันที่มีความยุ่งยากซับซ้อน เช่น ฟันที่มีลักษณะคลองรากตีบตันไม่สามารถระบุตำแหน่งของคลองรากฟันแต่พบรอยโรครอบปลายราก ฟันที่มีระบบคลองรากฟันซับซ้อน ฟันปลายรากเปิดที่มีผนังคลองรากบางเสี่ยงต่อการแตกหักและคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อซ้ำ โดยเชื้อที่พบในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อซ้ำมากที่สุดคือเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส (*Enterococcus faecalis*) [5] ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้ในการติดเชื้อในคลองรากแบบปฐมภูมิเช่นกัน มีคุณสมบัติทนต่อสภาวะที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการอุดคลองรากและดื้อต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นยาที่นิยมใส่ในคลองรากทำให้การกำจัดเชื้อชนิดนี้ทำได้ยาก[6]

ยาที่ใส่ในคลองรากฟันมีบทบาทสำคัญในการลดปริมาณเชื้อในคลองรากฟัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคลองรากที่ไม่สามารถเข้าไปทำความสะอาดด้วยวิธีการเตรียมคลองรากปกติได้ ต้องอาศัยคุณสมบัติการแพร่กระจายของยาเข้าไปสู่ผนังคลองรากฟันในส่วนที่ซับซ้อน จากการศึกษา Hoshino และคณะ [7] พบว่าเมื่อนำยาปฏิชีวนะทรีมิกส์หรือยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก (Triple antibiotic paste) ซึ่งประกอบด้วย เมโทรนิดาโซล (Metronidazole), มิโนซัยคลิน (Minocycline)

และ ซิโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ละลายในแมคโครกอล (Macrogol) และโพรพีลีนไกลคอล (Propylene glycol) ที่ผสมกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 วางบริเวณรูเปิดคลองรากฟันถอนที่ติดเชื้อ โดยใช้ยาแต่ละตัวที่ความเข้มข้น 25 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะไม่พบการกลับมาของเชื้อ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อมากกว่ายาปฏิชีวนะชนิดเดียว ช่วยลดโอกาสการดื้อยาของเชื้อ จึงเป็นเหตุผลให้มีการนำยาปฏิชีวนะทรีมิกส์มาใช้ในการกำจัดเชื้อในฟันน้ำนมที่มีรอยโรคปลายรากเรียกว่า แอลอาร์เอสที (Lesion sterilization and tissue repair, LSTR)[8] การรักษาฟันที่มีรอยโรคขนาดใหญ่[9] และการทำรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติก (Regenerative endodontic treatment) ซึ่งยาสามารถกำจัดเชื้อในฟันปลายรากเปิดที่มีการตายของเนื้อเยื่อในได้ ภายหลังการรักษาไม่พบอาการและอาการแสดงของผู้ป่วยและก่อให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อรอบปลายราก [10]

แต่อย่างไรก็ตามพบการติดสีของตัวฟันภายหลังการใส่ยาปฏิชีวนะทรีมิกส์ คาดว่าน่าจะเกิดจากยามิโนซัยคลินซึ่งเป็นยาในกลุ่มเตตราซัยคลิน (Tetracycline) ที่มีคุณสมบัติในการเกาะติดเนื้อฟันและจับกับคอลลาเจน[11] มีการศึกษาที่พยายามหาสูตรยาที่มีประสิทธิภาพในการ กำจัดเชื้อเทียบเท่ายาปฏิชีวนะทรีมิกส์ อาทิเช่นการใช้ยาดับเบิ้ลแอนติไบโอติกหรือยาปฏิชีวนะทูมิกส์ (Double antibiotic paste) ที่ประกอบไปด้วย เมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซิน หรือการใช้ยาชนิดอื่นทดแทนยามิโนซัยคลิน อาทิเช่น เซฟาคลอ (Cefaclor) และอะม็อกซีซิลลิน (Amoxycillin) เป็นต้น ซึ่งให้ผลดี [12]

นอกจากนี้ยามิโนซัยคลินที่เป็นส่วนประกอบของยาปฏิชีวนะทรีมิกส์ยังหาซื้อได้ยากในประเทศไทย ในขณะเดียวกันการติดเชื้อในคลองรากฟันมักพบการติดเชื้อปฐมภูมิเป็นหลัก ซึ่งมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกสูงถึงร้อยละ 100[13-16] การเลือกใช้ยาเฉพาะกลุ่มที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อน่าจะเพียงพอในการกำจัดเชื้อ

ออกเมนติน (Augmentin) คือชื่อทางการค้าของสูตรผสมยาอะม็อกซีซิลลิน และคลาวูลานิคแอซิด(clavulanic acid) โดยยาอะม็อกซีซิลลิน จัดอยู่ในกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) ที่มีโครงสร้างวงเบต้า-แลคแตม (Beta-Lactam ring nucleus) เป็นองค์ประกอบในการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อมีการเติมกรดคลาวูลานิกที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมส (Beta-Lactamase) ที่เชื้อหลั่งมาไม่ให้ไปทำลายวงเบต้า-แลคแตมของยา ทำให้ขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างมากขึ้นสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ

Saber และ El-Hady[17] พบว่า การใส่ยาออกเมนตินในฟันถอนของมนุษย์ที่ได้รับการติดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสนาน 30 วันให้ผลการเพาะเชื้อเป็นลบถึงละ 80 นอกจากนี้ยังพบว่า

เมื่อนำอะม็อกซีซิลลิน ทดแทนมิโนซัยคลินในยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ที่ใส่ในคลองรากฟันที่รักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ให้ผลทางคลินิกที่ดี พบการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันน้อยกว่าการใช้มิโนซัยคลิน[18] อีกทั้ง Kaushik และคณะ[19] พบว่ายาออกเมนสามารถฆ่าเชื้อในคลองราก 14 สายพันธุ์โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุดมากกว่ายาเมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซิน 2 ถึง 5 เท่า

เนื่องจากยามิโนซัยคลินมีผลข้างเคียงที่อาจทำให้การติดสีของตัวฟันและหาซื้อได้ยากในประเทศไทย คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาผลของยาทรีมิกส์และออกเมนตินในขั้นตอนการใส่ยาเพื่อกำจัดเชื้อของการรักษาคลองรากในฟันถอนของมนุษย์ที่ได้รับการติดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งเป็นเชื้อที่พบในคลองรากที่การติดเชื้อคลองรากแบบปฐมภูมิและการติดเชื้อซ้ำ มีความทนทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการรักษาคลองราก

คำถามวิจัย

ออกเมนตินมีความสามารถในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากฟันแตกต่างจากยาปฏิชีวนะทรีมิกส์หรือไม่

ความมุ่งหมายของการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายเพื่อเปรียบเทียบผลการลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสของยาออกเมนตินกับทรีมิกส์ในคลองรากฟันถอนของมนุษย์

ความสำคัญของการวิจัย

ปัจจุบันมีการศึกษายาที่ใส่ในคลองรากฟันในการกำจัดเชื้อที่ก่อให้การตายของเนื้อเยื่อในและการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันทั้งในห้องปฏิบัติการและในทางคลินิก สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ทางคณะผู้วิจัยสนใจทำการศึกษาในเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสโดยจำลองสถานการณ์จริงในฟันถอนของมนุษย์เพื่อเปรียบเทียบผลการลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสของยาออกเมนตินกับทรีมิกส์ โดยคาดว่าผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับความสามารถของยาออกเมนตินในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟัน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก

ขอบเขตของวิจัย

กลุ่มประชากร

ในการวิจัยครั้งนี้กลุ่มประชากร คือ ฟันรากเดี่ยวปราศจากรอยผุของมนุษย์ที่ได้รับการถอนโดยไม่มีการระบุตัวตนจำนวน 70 ซี่

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

สุ่ม (Randomization) ฟันจำนวน 70 ซี่ ด้วยวิธีจับฉลากเพื่อจัดแบ่งกลุ่มออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ 30 ซี่ ออกเมนติน 30 ซี่ ควบคุมบวก 5 ซี่ และควบคุมลบ 5 ซี่

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรอิสระ คือ ชนิดของยาที่ใส่ในคลองรากฟัน คือ ทรีมิกส์และออกเมนติน
2. ตัวแปรตาม คือ ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่ลดลง

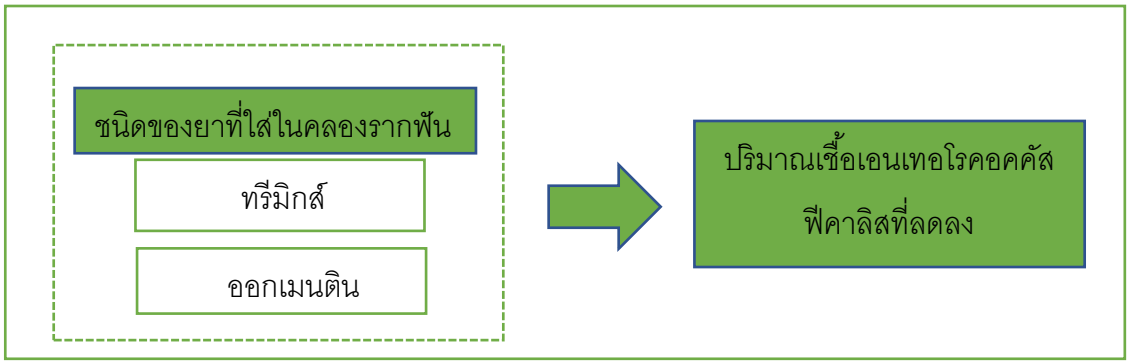
นิยามศัพท์เฉพาะ

ยาปฏิชีวนะทรีมิกส์หรือทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก (Triple antibiotic paste) หมายถึง ส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด อันได้แก่ เมโทรนิดาโซล มิโนซัยคลิน และซิโพรฟลอกซาซิน

แอลอาร์เอสที (Lesion sterilization and tissue repair, LSTR) หมายถึง การใช้ส่วนผสมของยาปฏิชีวนะกำจัดเชื้อในเนื้อฟัน เนื้อเยื่อในและรอยโรครอบปลายรากฟัน

รีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติก (Regenerative endodontic treatment) หมายถึง กระบวนการทางชีววิทยาในการทดแทนโครงสร้างที่ถูกทำลายไป ซึ่งก็คือ เนื้อฟัน รากฟัน และเซลล์ภายในเนื้อเยื่อใน ใช้หลักการของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) ที่ประกอบด้วย สเต็มเซลล์ (stem cells) โครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold) และโกรทแฟคเตอร์ (Growth factor)

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

สมมติฐานการวิจัย

ชนิดของยาที่ใส่ในคลองรากฟัน

สมมติฐานหลัก: ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่ลดลงเมื่อใส่ยาต่างชนิดกันในคลองรากฟันไม่มีความแตกต่างกัน

สมมติฐานรอง: ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่ลดลงเมื่อใส่ยาต่างชนิดกันในคลองรากฟันไม่มีความแตกต่างกัน

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ชนิดของเชื้อภายในคลองราก
2. การใส่ยาในคลองรากฟัน

ชนิดของเชื้อภายในคลองราก

การติดเชื้อภายในคลองรากเป็นสาเหตุหลักของการเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน[1] อาจเกิดจากการมีฟันผุ โรคปริทันต์ หรือ การที่ฟันได้รับภยันตรายจนเกิดภาวะขาดเลือดของเนื้อเยื่อในที่จะนำไปสู่การตายของเนื้อเยื่อในซึ่งเป็นสภาวะที่เกิดการสูญเสียระบบภูมิคุ้มกันและมีสารอาหารเพียงพอให้เชื้อสามารถลุกลามเข้าไปสร้างชุมชนและแบ่งตัวในระบบคลองรากได้[2]

ในคลองรากที่มีการติดเชื้อจะพบแบคทีเรียได้หลายสายพันธุ์ แบคทีเรียที่พบได้บ่อยในการติดเชื้อครั้งแรกจะมีกลุ่มที่ทนอากาศไม่ได้เป็นหลัก ได้แก่ เปปโตสเตปโตคอคคัส พรีโวเทลลา พอร์ไฟโรโมแนส ฟิวโซแบคทีเรียม ทรีโปนีมา ยูแบคทีเรียมและแอคติโนไมเซส (Actinomyces)[5] เช่นเดียวกับในฟันแท้ปลายรากเปิดที่ได้รับการติดเชื้อครั้งแรกหรือประสบภยันตรายจนเกิดการตายของเนื้อเยื่อในนั้นพบเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส เอนโดดอนทาลิส (*Porphyromonas endodontalis)* พาร์วิโมนาส ไมครา *(Parvimonas micra)* ฟิวโซแบคทีเรียม นิวคลิเอตัม *(Fusobacteium nucleatum*) และแอคติโนไมเซส นีสลันดิไอ *(Actinomyces naeslundii)* ซึ่งเป็นเชื้อกลุ่มที่ทนอากาศไม่ได้[20] การรักษาคลองรากฟันจึงมีเป้าหมายหลักคือการกำจัดเชื้อในระบบคลองรากเพื่อป้องกันและรักษาการเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายราก[3] เนื่องจากการผลการเพาะเชื้อเป็นบวกขณะที่ทำการอุดคลองรากฟันนั้นจะมีผลต่อความสำเร็จในการรักษาคลองรากน้อยกว่าคลองรากที่มีผลการเพาะเชื้อเป็นลบอย่างมีนัยสำคัญ[21] สอดคล้องกับการศึกษาของ Nair และคณะ[22] ที่พบว่าสาเหตุของการล้มเหลวของรักษาคลองรากส่วนใหญ่เกิดจากการคงอยู่ของเชื้อภายในคลองรากคลองรากที่มีการติดเชื้อซ้ำสามารถพบเชื้อสายพันธุ์เดียวหรือจำนวนน้อยสายพันธุ์กว่าการติดเชื้อครั้งแรกโดยมีเชื้อในกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศและแบคทีเรียแกรมบวกเป็นกลุ่มหลัก ได้แก่ เอนเทอโรคอคคัส สเตรปโตคอคคัส และแลคโตบาซิลัส (Lactobacillus)[5, 21]

เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสคือเชื้อแกรมบวกรูปวงรีไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ถึง 1 ไมโครเมตร อาจพบในลักษณะเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่หรือมีการยืดและเรียงตัวเป็นสายสั้น เชื้อในสายพันธุ์นี้ส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่และไม่ย่อยสลายเม็ดเลือด เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงที่ผสมเลือดจะพบลักษณะโคโลนี กลม เรียบ การติดเชื้อในคลองรากฟันแบบปฐมภูมิสามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ร้อยละ 4 ถึง 89 โดยพบในฟันที่มีรอยโรครอบปลายรากอย่างเรื้อรังและไม่มีอาการมากกว่าฟันที่มีเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันอักเสบเฉียบพลันแบบมีหนอง[23]และพบได้บ่อยที่สุดในคลองรากที่มีการติดเชื้อคงอยู่[5, 21] มีค่าความชุกในฟันที่เคยรักษารากแล้วล้มเหลวร้อยละ 18.5 ถึง 89.6[23, 24] ซึ่งเป็นผลมาจากคุณสมบัติหลายประการที่ทำให้เชื้อคงอยู่ได้ภายหลังการรักษาคลองราก ได้แก่ ความสามารถในการยึดเกาะกับเซลล์เจ้าบ้านโดยจะแสดงโปรตีนที่สามารถแข่งขันกับเชื้อชนิดอื่นและสามารถกดการทำงานของเซลล์ลิมโพไซต์ได้ ความสามารถในการยึดเกาะกับคอลลาเจนที่อยู่ในผนังคลองรากจากการหลั่งสารเซรีนโปรติเอส (Serine protease), โปรตีนที่ยึดกับคอลลาเจน (Collagen-binding protein, Ace), และเจลาติเนส (Gelatinase, gelE)[25] ร่วมกับการที่เชื้อมีขนาดเล็กทำให้เชื้อแทรกซึมเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ยากต่อการกำจัดเชื้อออกจากระบบคลองราก[26, 27] มีความทนทานต่อสารเคมีและการทำความสะอาดด้วยการเตรียมคลองรากฟัน มีความทนทานต่อสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อสามารถกลับมามีชีวิตได้แม้จะผ่านช่วงเวลาที่ขาดแคลนอาหารอยู่ภายในฟันที่ได้รับการอุดคลองรากเป็นเวลานานถึง 6 เดือน[28] ในสภาวะที่เป็นด่างเชื้อสามารถนำโปรตอนเข้าเซลล์เพื่อลดความเป็นด่างภายในเซลล์ของเชื้อได้ทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอชต่ำกว่า 11.5 ไม่สามารถกำจัดได้[6]และในสภาวะพีเอชเพิ่มขึ้นไปจนถึง 8.5 เชื้อจะสามารถจับกับคอลลาเจนชนิดที่ 1 บนผนังคลองรากได้มากขึ้น[29] ทำให้สามารถพบการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อในผนังคลองรากที่ได้รับการใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้[30] นอกจากนี้ยังสามารถหลั่งเอนไซม์หรือสารอักเสบที่ก่อให้เกิดการทำลายของเนื้อเยื่อได้[31] และในคลองรากที่มีการติดเชื้อคงอยู่สามารถจำแนกยีนส์ที่สามารถสร้างโปรตีนก่อโรคของเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้แก่ Ace ที่ใช้ในการยึดเกาะกับคอลลาเจน[25] gelE เอนไซม์เมทัลโลโปรตีนเนส (Metalloproteinase) ที่สามารถย่อยฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin) เคซีน (Casein) ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) คอลลาเจน เจลาติน และไฟบริน[32] สารที่ใช้ในการรวมกลุ่ม (Aggregation substance, asa) ช่วยให้สามารถจับกับคอลลาเจนชนิดที่ 1 ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อฟันได้ โปรตีนบนผิวของเอนเทอโรคอคคัส (Enterococcal surface protein, esp) ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการตั้งรกรากของเชื้อ เป็นต้น โดยเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความสามารถในการสะสมถ่ายทอดยีนส์ที่ก่อให้เกิดโรคและความสามารถในการดื้อยาได้[33]

จากการการตรวจสอบพบความไวของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกร้อยละ 100[13, 14, 34, 35] แต่อย่างไรก็ตามมีการรายงานการดื้อต่อยาเพนิซิลินของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส โดยการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกหรือความสามารถในการจับกับโปรตีนที่ใช้จับกับยาเพนิซิลินและบางตัวสามารถสร้างเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมสได้ นอกจากนี้ยังมีความไวปานกลางถึงดื้อต่อยาอะซิโทรมัยซินและอิริโทรมัยซิน[34, 35]และดื้อต่อยาคลินดามัยซิน เจนตามัยซิน เมโทรนิดาโซลและเตตราซัยคลิน ในอัตราที่สูง[35-37] โดยในเชื้อที่ดื้อต่อเตตราซัยคลิน นั้นอาจพบการแสดงออกของยีนส์ tetM และ tetL ที่สามารถถ่ายทอดไปยังเชื้อสายพันธุ์อื่นได้ [38]

เชื้อที่อยู่ในรูปแบบของแผ่นชีวภาพนั้นมีได้รับการปกป้องทำให้มีความทนทานต่อการทำลายมากกว่าเชื้อที่ล่องลอย (Planktonic form) เชื้อจะมีการปล่อยสารโพลีแซคคาไรด์นอกเซลล์ (Extracellular polysaccharide) เป็นโครงข่ายเส้นใยที่เชื่อมกลุ่มเชื้อไว้ด้วยกัน ทำให้มีความทนทานต่อระบบคุ้มกันร่างกายและยาต้านจุลชีพมากกว่าเชื้อที่ล่องลอยถึง 1000 เท่า เนื่องจากสารดังกล่าวไม่สามารถผ่านเข้าไปสัมผัสเชื้อได้ นอกจากนี้ภายในแผ่นชีวภาพมีสารอาหารออกซิเจนและสภาวะที่เหมาะสมเอื้อต่อการเจริญของเชื้อ อีกทั้งเชื้อสามารถมีชีวิตได้โดยไม่มีการแบ่งตัว[28] เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความสามารถในการสร้างแผ่นชีวภาพบนผนังคลองรากที่เคยได้รับการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์[30] โดยเริ่มพบการตั้งรกรากของเชื้อบนผิวเนื้อฟันเมื่อเวลาผ่านไป 2 วัน เมื่อทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบการสร้างแผ่นชีวภาพของ เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสบนผนังคลองรากฟันมนุษย์ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 86 และ160 วัน พบแผ่นชีวภาพโครงสร้างคล้ายเห็ดมีความลึก 21 และ 30 ไมโครเมตรตามลำดับ[30] ต่อมามีการศึกษาที่ทำการสร้างแผ่นชีวภาพในคลองรากฟันมนุษย์[39-42] หรือบนชิ้นฟันมนุษย์[43, 44]เพื่อนำใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาล้างคลองรากและยาที่ใส่ในคลองรากฟัน โดยใช้เวลาในการสร้างแผ่นชีวภาพนาน 15 นาทีถึง 160 วัน[45] และในการศึกษาของ Du และคณะ[44]พบว่าแผ่นชีวภาพของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่มีอายุมาก (3สัปดาห์) จะทนทานมากกว่าแผ่นชีวภาพที่อายุน้อย (1วัน)

การใส่ยาในคลองรากฟัน

เนื่องจากคลองรากฟันมีลักษณะที่ซับซ้อนเชื้อสามารถแพร่เข้าไปอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ลึกถึง 200 ไมโครเมตรที่บริเวณคลองรากฟันส่วนต้นและส่วนกลาง[46] แม้ภายหลังการเตรียมคลองรากฟันสามารถพบพื้นผิวที่ไม่ถูกสัมผัสประมาณร้อยละ 35 ไม่ว่าจะใช้เครื่องมือระบบใด[47] และยังพบเชื้อจุลชีพแทรกซึมเข้าไปในท่อเนื้อฟันของฟันขยายคลองแล้วได้ถึงร้อยละ 65 (13 ซี่จาก

ทั้งหมด 20 ซี่)[48] แสดงให้เห็นว่าการเตรียมคลองรากฟันเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ทั้งหมด การใส่ยาในคลองรากฟันในระหว่างแต่ละครั้งที่ทำการรักษานั้นร่วมกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันจึงมีความสำคัญโดยหวังผลในการกำจัดเชื้อที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันภายหลังการเตรียมคลองรากฟัน ป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อซ้ำ ลดโอกาสในการเพิ่มจำนวนของเชื้อที่หลงเหลืออยู่ในระหว่างนัดหมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคลองรากฟันที่ไม่สามารถเข้าไปทำความสะอาดด้วยวิธีการเตรียมคลองรากได้ เช่น คลองรากตีบตันที่มีการติดเชื้อและมีรอยโรคปลายรากแต่ไม่สามารถสร้างทางเข้าสู่คลองรากฟันได้หรือฟันปลายรากเปิดที่มีผนังคลองรากบางเสี่ยงต่อการแตกหักและคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อซ้ำ อาจมีความจำเป็นที่จะต้องอาศัยการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันร่วมกับการใส่ยาภายในคลองรากฟันเป็นหลักเพื่อลดปริมาณเชื้อในคลองรากให้เหลือน้อยที่สุด

แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่ใช้มากที่สุดในการรักษาคลองรากฟัน มีพีเอชสูงประมาณ 12.5-12.8 มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำทำให้แตกตัวออกเป็น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และไฮดรอกซิลไอออน (OH^-)อย่างช้าๆ โดยไฮดรอกซิลไอออนจะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ เปลี่ยนสภาพโปรตีน และทำลายสารพันธุกรรมของเชื้อจุลชีพ แต่อย่างไรก็ตามแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสและแคนดิดา อัลบิแคน *(Candida albican)* เนื่องจากสามารถทนสภาวะความด่างสูงได้ร่วมกับการที่เนื้อฟันสามารถลดความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์จากกระบวนการบัฟเฟอร์ทำให้พีเอชที่เกิดจากการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่เพียงพอที่จะฆ่าเชื้อได้[6]

ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ถูกนำมาใช้ในการกำจัดเชื้อในรอยโรคฟันผุและผนังคลองรากฟันที่ติดเชื้อของฟันที่ถูกถอนมาแล้วโดย Hoshino และคณะ[7] พบว่าเมื่อนำยาแต่ละตัวความเข้มข้น 0.025 ถึง 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาผสมกันจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อมากกว่ายาปฏิชีวนะชนิดเดียวและจะไม่พบการกลับมาของเชื้อ สอดคล้องกับ Sato และคณะ[49] ที่พบว่าเมื่อนำส่วนผสมของยาแต่ละตัวความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางบริเวณรูเปิดคลองรากฟันยาจะสามารถแพร่ผ่านท่อเนื้อฟันเข้าไปกำจัดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli)* ที่อยู่ในผนังคลองรากฟันได้ทั้งหมดภายใน 48 ชั่วโมง จึงเป็นเหตุผลให้มีการนำยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์มาใช้ในการกำจัดเชื้อในฟันน้ำนมที่มีรอยโรคปลายราก การรักษาคลองรากฟันที่มีรอยโรคขนาดใหญ่และการทำรีเจนเนอเรทีฟเอนโดดอนติก ซึ่งยาสามารถกำจัดเชื้อฟันปลายรากเปิดที่มีการตายของเนื้อเยื่อใน ไม่พบอาการและอาการแสดงของผู้ป่วยและก่อให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อรอบปลายราก[10] แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากพบว่ามีการติดสีของตัวฟันภายหลังการรักษาด้วยการใส่ยา

ปฏิชีวนะทรีมิกซ์ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากยามิโนซัยคลินที่จัดอยู่ในกลุ่มเตตราซัยคลิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการเกาะติดเนื้อฟันและจับกับคอลลาเจน [11] จึงมีการพยายามปรับใช้ยาปฏิชีวนะทรีมิกส์ให้เหลือเพียง 2 ชนิดคือ เมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซิน หรือ ยาปฏิชีวนะทูมิกซ์[50] นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาตัวอื่นมาทดแทนยามิโนซัยคลิน ตัวอย่างเช่นการศึกษาของ Sato และคณะ[51] ใช้อะมอกซีซิลลิน เซฟาคลอ (cefaclor) เซฟโฟรซาดีน (cefroxadine) ฟอสโฟไมซิน (10osfomycin) โรกิตะไมซิน (rokitamycin) พบว่ามีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ เมื่อใช้ส่วนผสมยาที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นต้น

การใช้ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ในงานรักษาคลองรากฟัน

ปกติแล้วในคลอรากฟันที่มีการติดเชื้อจะเลือกใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นหลัก เนื่องจากมีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อที่ดี แต่อย่างไรก็ยังพบกรณีที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถทำให้อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยดีขึ้นได้ จึงมีการนำยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์มาใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการกำจัดเชื้อในคลองราก ดังนี้ [52]

การกำจัดเชื้อในฟันน้ำนมที่มีรอยโรคปลายราก (Lesion Sterilization and Tissue Repair therapy for endodontic treatment of primary teeth).

การศึกษาของ Takushige และคณะ[8]พบว่าเมื่อนำยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์วางบนรูเปิดคลองราก ให้ผลประสบความสำเร็จในการรักษาทางคลินิก คืออาการและอาการแสดงทางคลินิกหายไป ร้อยละ 100

การรักษาคลองรากฟันที่มีรอยโรคขนาดใหญ่

รายงานผู้ป่วยของ Özan และ Er พบว่าฟันที่มีรอยโรครอบปลายรากขนาดใหญ่คล้ายถุงน้ำที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นยาที่ใช้มากที่สุดในการรักษาคลองรากฟันทั่วไป เมื่อใส่ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ในคอลรากเป็นเวลา 2 เดือน พบการหายของรอยโรคปลายรากได้[9]

รีเจนเนอเรทีฟเอนโดดอนติก(Regenerative endodontic treatment)

รีเจนเนอเรทีฟเอนโดดอนติก คือการรักษาที่ใช้กระบวนการทางชีววิทยาในการทดแทนโครงสร้างที่ถูกทำลายไป ซึ่งก็คือ เนื้อฟัน และรากฟันรวมไปถึงเซลล์ภายในระบบโพรงเนื้อเยื่อในและเนื้อฟัน ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาฟันปลายรากเปิดที่มีการตายเพื่อหวังผลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างรากต่อและการกลับมามีชีวิตของฟัน เนื่องจากฟันปลายรากเปิดมีผนังคลองรากที่บางและมีรูเปิดปลายรากที่กว้างทำให้ความแข็งแรงของรากฟันน้อยมีความเสี่ยงในการแตกหักของรากฟันที่สูง จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อเพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตาม

เชื้อที่พบในคลองรากเปิดคล้ายคลึงกับที่พบในฟันแท้ปลายรากปิดที่มีการติดเชื้อแบบปฐมภูมิ จึงพบว่าการใช้ทรีมิกซ์สามารถกำจัดเชื้อในคฟันที่มีปลายรากเปิดให้ผลการรักษาทางคลินิกที่ดี[53] โดยในงานวิจัยนี้มีความสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพของยาที่ใส่ในคลองรากคือ ยาปฏิชีวนะทรีมิกส์และออกเมนติน เนื่องจากยามิโนซัยคลินที่เป็นส่วนประกอบของยาปฏิชีวนะทรีมิกส์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของฟันและไม่สามารถหาซื้อได้ในประเทศไทย

ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์

ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์ ซึ่งประกอบด้วย เมโทรนิดาโซล มิโนซัยคลิน และซิโพรฟลอกซาซินซึ่งคุณสมบัติของส่วนประกอบยาแต่ตัวมีดังต่อไปนี้

เมโทรนิดาโซล

เมโทรนิดาโซลเป็นสารประกอบไนโตรอิมิดาโซล (nitroimidazole) สามารถแทรกผ่านเยื่อบุของเชื้อจุลชีพเข้าไปจับกับสารพันธุกรรมขัดขวางโครงสร้างเกลียวดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid) นำไปสู่การตายอย่างรวดเร็วของเซลล์ มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อกลุ่มทนอากาศไม่ได้ทั้งแกรมบวก เช่น เปปโตสเตปโตคอคคัส เป็นต้น และแกรมลบเช่น เชื้อกลุ่มฟิวโซแบคทีเรียมและแบคทีรอย (Bacteroides) เป็นต้น และโปรโตซัว (protozoa) บางตัว ยาถูกดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหาร สามารถซึมผ่านน้ำไขสันหลังได้[54]

ความไวของเชื้อทางเอ็นโดดอนติกส์ต่อยาเมโทรนิดาโซลนั้น Khemaleelakul และคณะ[13] ได้ทำการจำแนกเชื้อในหนองของผู้ป่วยที่มีฝีปลายรากเฉียบพลัน (acute endodontic abscesses) หรือมีการอักเสบเฉียบพลันแพร่กระจาย (cellulitis) ที่รับการรักษาที่คณะทันตแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย พบเชื้อหลากหลายสายพันธุ์แบ่งเป็นเชื้อกลุ่มทนอากาศไม่ได้ 80 สายพันธุ์และเชื้อกลุ่มทนอากาศได้ 47 สายพันธุ์ โดยมีพรีโวเทลลาและสเตรปโตคอคคัสมากที่สุด พบร้อยละของเชื้อที่มีความไวของเชื้อต่อยาเมโทรนิดาโซลเท่ากับ 88 สอดคล้องกับการศึกษาของ Baumgartner และ Xi[55] ที่ทำการจำแนกเชื้อในหนองของผู้ป่วยเช่นเดียวกันพบว่าจากเชื้อ 98 สายพันธุ์ ร้อยละของเชื้อที่มีความไวของเชื้อต่อยาเมโทรนิดาโซลเท่ากับ 96 (94/98) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยาเมโทรนิดาโซลมีโอกาสเกิดการดื้อยาสูง โดยในการศึกษาของ Skucaite และคณะ[14] พบว่าเชื้อกลุ่มทนอากาศไม่ได้ดื้อต่อยาเมโทรนิดาโซลมากกว่าร้อยละ 50

มิโนซัยคลิน

มิโนซัยคลินเป็นยารุ่นที่ 2 ในกลุ่มเตตราซัยคลิน มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างโปรตีนบนผิวของไรโบโซม 30 เอส (30 S ribosome) ยับยั้งการสลายเอนไซม์คอลลาเจนเนส (collagenases) และเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinase) อีกทั้งอาจทำ

ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารพันธุกรรมและส่วนประกอบภายในเซลล์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งแกรมบวกและลบ โดยสามารถแพร่ผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบผ่านทางโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์[56]อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Łysakowska และคณะ[57] พบว่า เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส 3 สายพันธุ์ที่มียีนส์ที่ดื้อต่อเตตราซัยคลิน สอดคล้องกับ Skucaite และคณะ[14] ที่พบร้อยละ 30 ของเชื้อ เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสดื้อต่อเตตราซัยคลิน นอกจากนี้มิโนซัยคลินสามารถจับกับแคลเซียมไอออนเข้าไปอยู่ในเนื้อฟันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันได้ [11]

ซิโพรฟลอกซาซิน

ซิโพรฟลอกซาซิน เป็นยากลุ่มฟลูโอโรควิโนโลน (fluoroquinolone) สามารถยับยั้งการทำงาน ของเอนไซม์ดีเอนเอไจเรส (DNA gyrase) และโทโปไอโซเมอเรสโฟว์ (topoisomerase-IV) ใน กระบวนการถ่ายแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) มีผลต่อการเจริญของเชื้อในระยะทวีจำนวน (duplication stages) และระยะสงบ (latent stage) ของเซลล์ มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อแกรม ลบและบวก[58]โดย เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสบางสายดื้อต่อยาซิโพรฟลอกซาซิน [57]

ความเข้มข้นยาทรีมิกซ์ที่ใช้ในการกำจัดเชื้อนั้นมีความมีสำคัญต้องมีผลต่อเซลล์ต้นกำเนิดน้อยที่สุดและสามารถลดปริมาณเชื้อในคลองรากให้เหลือน้อยที่สุด

ความเข้มของยาที่มีพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดนั้น Ruparel และคณะ[59]ศึกษาความเข้มข้นของยา 5 กลุ่ม คือ ยาทรีมิกซ์ ยาทรีมิกซ์ที่ได้รับการดัดแปลง (เมโทรนิดาโซล เซฟาคลอและซิโพรฟลอกซาซิน) ยาทูมิกซ์ ออกเมนตินและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อการอยู่รอดของเซลล์ต้นกำเนิดของเนื้อเยื่อรอบปลายราก (Stem cells of the apical papilla, SCAP) พบว่าอัตราการรอดชีวิตของ SCAP ในกลุ่มยาปฏิชีวนะจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของยาสูงขึ้น อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยาปฏิชีวนะทั้ง 4 กลุ่มจะไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับการมีชีวิตของ SCAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปได้ว่าความเข้มข้นสูงสุดของยาปฏิชีวนะที่ปลอดภัยต่อ SCAP คือ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสอดคล้องกับที่สมาคมทันตแพทย์เฉพาะทางเอ็นโดดอนต์ในสหรัฐอเมริกาได้แนะนำให้ใช้ยาปฏิชีวนะความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร[60]

ความเข้มข้นยาทรีมิกซ์ที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อนั้น Sabrah และคณะ[61] ใช้วิธีไมโครไทเทอร์เพลท (microtiter plate method) พบว่ายาทรีมิกซ์และทูมิกซ์ที่มีน้ำเป็นกระสายยาสามารถฆ่าเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสอายุ 1 คืนที่ความเข้มข้นต่ำสุด (minimum bactericidal

concentration, MBC) เท่ากับ 0.3 และ 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดมีต่อการเจริญของแผ่นชีวภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในการศึกษาต่อมาพบว่าการใช้ทรีมิกซ์และทูมิกซ์ความเข้มข้นที่ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่ส่งผลเสียต่อเซลล์ต้นกำเนิดแต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้แม้ว่าจะใส่ยานาน 3 สัปดาห์[39, 50, 62] ในขณะที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดเชื้อได้ทั้งหมดแต่มีผลกระทบต่อเซลล์ต้นกำเนิดของเนื้อเยื่อใน [39, 62]

ดังนั้น Tagelsir และคณะ [50] จึงแนะนำให้ใช้ทูมิกซ์ความเข้มข้นอย่างน้อย 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากกว่าร้อยละ 99.9 และมีค่าอัตราการรอดชีวิต SCAP ร้อยละ 50 ร่วมกับการใช้น้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ร้อยละ 1.5 เป็นเวลา 5 นาทีจะสามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด ในขณะที่ Lathem และคณะ[39] แนะนำให้ใช้ทรีมิกซ์ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเนื่องจากกำจัดเชื้อได้มากที่สุดและมีอัตราการรอดชีวิตของ SCAP ประมาณร้อยละ 10 แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวใช้เชื้อจากทดลองไม่ใช่เชื้อจากคลองรากฟันที่ติดเชื้อในทางคลินิก Jacobs และคณะ[63] จึงได้ทำการเพาะเชื้อจากคลองรากฟันแท้ปลายเปิดและปลายปิดที่มีการติดเชื้อและมีรอยโรคปลายรากนำมาใส่ลงบนชิ้นฟันพบว่าทูมิกซ์ 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถกำจัดแผ่นชีวภาพได้ทั้งหมด ยกเว้นในคลองรากฟันปลายเปิดที่ใส่ทูมิกซ์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่สามารถกำจัดเชื้อทั้งหมดได้เนื่องจากมีความชุกของเชื้อมากกว่า

ระยะเวลาที่ควรใส่ทรีมิกซ์ในคลองรากนั้น Madhubala และคณะ[64] พบว่าการใส่ทรีมิกซ์ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในคลองรากของฟันถอนของมนุษย์ที่ได้รับการเพาะเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส 21 วัน สามารถลดลดปริมาณเชื้อได้ ร้อยละ 82.58, 92.28 และ 98.46 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2 และ 7 วันตามลำดับแต่อย่างไรก็ตาม Lathem และคณะ[39] พบว่าแม้จะทำการใส่ยานาน 4 สัปดาห์หากมีความเข้มข้นที่ใช้ต่ำจะไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ทั้งหมดเนื่องจากร้อยละ 88 ของฟันที่ใช้ทรีมิกซ์เป็นยาในคลองรากฟันจะพบการแทรกซึมของยาเข้าไปเนื้อฟันได้ลึกถึง 350 ไมโครเมตรไม่ว่าจะทำการล้างด้วยวิธีใดก็ตาม[65] คุณสมบัติการฆ่าเชื้อจึงคงอยู่ภายหลังการล้างคลองรากฟัน โดยทรีมิกซ์ 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรคงอยู่นาน 7 วันทูมิกซ์ 0.5 หรือ 1 ทรีมิกซ์ 1000,100,10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร[66] คงอยู่นาน 14 วัน และทูมิกซ์ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีคุณสมบัติฆ่าเชื้อคงอยู่นานที่สุดถึง 30 วัน[67]

ออกเมนติน

ออกเมนติน คือชื่อทางการค้าของสูตรผสมอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกโดยยาอะม็อกซีซิลลิน จัดอยู่ในกลุ่มเพนิซิลลินที่มีโครงสร้างวงเบต้าแลคแตมเป็นองค์ประกอบในการ

ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย[68] เมื่อมีการเติมกรดคลาวูลานิกที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมสที่เชื้อหลั่งมาไม่ให้ไปทำลายวงเบต้าแลคแตมของยา ทำให้ขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างมากขึ้นสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ อาทิเช่น เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส สเตรปโตคอคคัส กลุ่มวิริแดนส์ (viridans group Streptococcus) เนอิสซีเรีย โกโนเรีย (*Neisseria gonorrhoeae)* แบคทีรอย ฟิวโซแบคทีเรียม และเปปโตสเตปโตคอคคัส เป็นต้น โดยเชื้อที่พบในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อปฐมภูมินั้นมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกสูงถึงร้อยละ 100[13-16]

ออกเมนตินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส (ATCC 29212) ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.09 ถึง 2.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกร้อยละ 100[13, 14, 34, 35] และ Saber และ El-Hady[17] พบว่า การใส่ยาออกเมนตินในฟันถอนของมนุษย์ที่ได้รับการติดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสนาน 30 วันให้ผลการเพาะเชื้อเป็นลบถึงละ 80 ในขณะเดียวกัน Kaushik และคณะ[19] พบว่ายาออกเมนตินสามารถฆ่าเชื้อในคลองราก 14 สายพันธุ์โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุดมากกว่ายาเมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซิน 2 ถึง 5 เท่า

ยาออกเมนตินรูปแบบเม็ดที่ใช้รับประทานมีประกอบด้วยสารที่ไม่ออกฤทธิ์ ได้แก่ สารช่วยไหล (Glidants) คอลลอยดอล ซิลิกอน ไดออกไซด์ (Colloidal silicon dioxide) สารเคลือบ (Coating material) ไฮโปรเมลโลส (Hypromellose) ไทเทเนียม ไดออกไซด์ (titanium dioxide) สารหล่อลื่น (Lubricants) แมกนีเซียม สเตียเรท (magnesium stearate) โพลีเอทีลีนไกลคอล (polyethylene glycol) สารเพิ่มความหนืด (Thickening agent) ไมโครคริสตัลลีนเซลลูโลส (microcrystalline cellulose) และสารช่วยแตกกระจายตัว (Disintegrants and Superdisintegrant) โซเดียมสตาร์ชไกลโคเลท (sodium starch glycolate) [69]

ยาอะม็อกซีซิลลินและกรดคลาวูลานิกถูกดูดซึมได้ดีและรวดเร็วในทางเดินอาหารเสถียรในสภาวะที่เป็นกรด อาหารที่รับประทานไม่ได้ขัดขวางการดูดซึมของยา ยาอะม็อกซีซิลลินและกรดคลาวูลานิกสามารถแพร่กระจายได้ดีในเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกาย แต่ไม่สามารถผ่านไปสู่น้ำไขสันหลังและสมองได้ โดยยาจะจับกับโปรตีนอัลบูมินเพียงร้อยละ 18 และ 25 ตามลำดับ ค่าครึ่งชีวิตของยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกที่อยู่ในออกเมนตินเท่ากับ 1.3 และ 1 ชั่วโมงตามลำดับหลังได้รับยาออกเมนตินขนาด 250 หรือ 500 มิลิกรัมนาน 6 ชั่วโมง ยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกจะถูกขับออกทางไตในรูปเดิมร้อยละ 50 ถึง 70 และ ร้อยละ 25 ถึง 40 ตามลำดับ นอกจากนี้ยาออกเมนตินยังเป็นสารมีขั้วที่ละลายได้ในน้ำ [69]

กระสายยาของยาปฏิชีวนะ

การเตรียมยาปฏิชีวนะนั้นสามารถผสมกับกระสายยาได้หลายชนิด ดังต่อไปนี้

1. น้ำกลั่นเป็นกระสายยาที่หาได้ง่าย ผสมยาทรีมิกซ์แต่ละตัวที่มีความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ต่อ 1 จะมีลักษณะเป็นครีมข้นสามารถปั่นลงไปในคลองรากฟันด้วยเลนตูโรสไปรัล (Lentulo spiral) หรือบรรจุในตัวนำส่ง (carrier) ใส่ลงไปในคลองรากาสั้นกว่าความยาว 1 ถึง 2 มิลลิเมตร และใส่จนถึงระดับที่ต่ำกว่ารอยต่อของเคลือบฟันและเคลือบราก

2. แมคโครกอล (macrogol) หรือโพลีเอทีลีนไกลคอล 400 และโพรพีลีนไกลคอล (propylene glycol) ผสมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยโพรพีลีนไกลคอลมีคุณสมบัติในการแพร่เข้าสู่เนื้อฟันได้ดี[70] โดยจะนำมาผสมกับทรีมิกซ์ในอัตราส่วน กระสายยาต่อทรีมิกซ์ เท่ากับ 1 ต่อ 5 หรือ 1 ต่อ 7[71] การศึกษาของ Nalawade และคณะ[72] พบว่าโพรพีลีนไกลคอลมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมากที่สุดและการผสมโพลีเอทีลีนไกลคอล 400 กับโพรพีลีนไกลคอลไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Sungur และคณะ[73] พบว่าการใช้โพรพีลีนไกลคอลและน้ำกลั่นเป็นกระสายยาให้ผลการแพร่กระจายยาไม่แตกต่างกัน

3. เมทิลเซลลูโลส (metylcellulose) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายได้ดีในน้ำและสามารถเกิดเจลได้ เมื่อนำมาใช้เป็นกระสายยาจะมีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความหนืด ป้องกันการเกาะตัวของผงยาทำให้ยาในรูปสารแขวนลอยมีความคงตัวมากขึ้น ช่วยในการแตกตัวของยา และสามารถชะลอการปลดปล่อยของยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่ายาที่ใช้จะมีความเข้มข้นต่ำ ในงานรักษาคลองรากฟันที่มีความจำเป็นต้องใช้ยาความเข้มข้นต่ำเพื่อความปลอดภัยเซลล์ต้นกำเนิดอย่างงนรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติก ลักษณะของยาที่ผสมน้ำกลั่นจะเป็นของเหลวที่ควบคุมและนำมาใช้งานได้ยาก[39] การนำสารเมทิลเซลลูโลสมาผสมกับยาปฏิชีวนะจะช่วยให้ยามีความข้นหนืดมากขึ้นสามารถใช้งานได้ง่าย ยามีความคงตัวอยู่ในคลองรากและช่วยชะลอการปลดปล่อยของยา โดยจากการศึกษาของ Algani และคณะพบว่าการเตรียมยาทรีมิกส์โดยใช้ สารเมทิลเซลลูโลสเป็นตัวนำส่งยา ทำให้อยู่ในรูปเจลที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในห้องทดลอง พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสและ พอร์ไฟโรโมนาสจิงจิไวติส *(Porphyromonas gingivitis)* แม้ว่าจะ เจือจางไปจนถึง 1:160 [74]

4. น้ำเกลือ จากการศึกษาของ Hwang และคณะ[41] พบว่าเมื่อใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาในการนำส่งทรีมิกซ์จะสามารถลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้มากกว่าเมทิลเซลลูโลสคาดว่าเป็นผลมาจากการไหลแผ่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่า

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดกลุ่มประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง
2. การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การจัดกระทำและการวิเคราะห์ข้อมูล

การกำหนดกลุ่มประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มประชากร

การวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการจริยธรรมในคนประจำคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่หนังสือรับรอง DENTSWU-EC 11/2561 โดยใช้ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวปราศจากรอยผุที่ได้รับการถอนและเก็บในสารละลายไทมอลโดยไม่มีการระบุตัวตนจำนวน 70 ซี่

การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ฟันมนุษย์ที่ได้รับการถอนจำนวน 70 ซี่ ได้รับการสุ่มด้วยวิธีจับฉลากเพื่อจัดแบ่งกลุ่มออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มยาทรีมิกซ์ 30 ซี่ กลุ่มยาออกเมนติน 30 ซี่ กลุ่มควบคุมบวก 5 ซี่ และกลุ่มควบคุมลบ 5 ซี่

การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

การเตรียมฟัน

ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวที่ไม่มีรอยผุและรอยร้าวจำนวน 70 ซี่มาทำการตัดฟันที่รอยต่อของเคลือบฟันและเคลือบราก เตรียมคลองรากฟันด้วยเกตส์ กลิดเดน (Gates glidden drill), ไฟล์ชนิดเค (Kfiles) และไฟล์โปรเทปเปอร์ยูนิเวอร์แซล (Protaper universal) จนถึงขนาดเอฟ 4 (40/0.06) ตามลำดับ ระหว่างการเปลี่ยนเครื่องมือขณะขยายคลองรากฟันจะล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 เสมอ กำจัดชั้นเสมียร์ (Smear layer) โดยการล้างโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ร้อยละ 6 จำนวน 2 มิลลิลิตร อีดีทีเอ (EDTA) ร้อยละ 17จำนวน 2 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ร้อยละ 6 จำนวน 2 มิลลิลิตรในฟันแต่ละซี่ด้วยเข็มและกระบอกฉีด จากนั้นใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (Eppendorf) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น (Brain heart Infusion broth medium, บริษัท Becton, Dickinson and Company

จำกัด นิวเจอร์ซีย์ สหรัฐอเมริกา) 0.5 มิลลิลิตร ก่อนเข้าสู่กระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และเก็บในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการปราศจากเชื้อและการตรวจความบริสุทธิ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะซึ่งเอาไฟบรินออกแล้ว (Tryptic soy agar with defibrinated sheep blood, บริษัท ไบโอมีเดีย จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) [39, 42]

การเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟัน

เพาะเลี้ยงเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสสายพันธุ์เอทีซีซี 29212 (องค์กร American Type Culture Collection, เวอร์จิเนีย สหรัฐอเมริกา นำเข้าโดยบริษัท ไบโอมีเดีย จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะเก็บในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อไปเลี้ยงในเบรนฮารท์ อินฟิวชั่นเหลวข้ามคืนและปรับความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 ต่อมิลลิลิตร(บริษัท Shimadzu จำกัด ญี่ปุ่น) ซึ่งมีปริมาณเชื้อประมาณ 1 x10^8 โคโลนี-ฟอร์มมิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตร (Colony-forming units per milliliter, CFU/ml) จากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้ออยู่จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในคลองรากที่มีฟันกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมบวกอยู่ โดยฟันแต่ละซี่อยู่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ จากนั้นเก็บในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาทิ้งไว้นาน 21 วัน เพื่อให้เชื้อแพร่กระจายเข้าไปตามท่อเนื้อฟัน ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสัปดาห์เพื่อป้องกันการขาดแคลนอาหาร หลังจากครบ 21 วัน จะได้ฟันที่มีการติดเชื้อทั้งหมด 65 ซี่ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อด้วยการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะทุกสัปดาห์และสุ่มซี่ฟันในกลุ่มควบคุมเพื่อตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

การเก็บเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น

ล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อ 2 มิลลิลิตร ใส่สารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อด้วยกระบอกฉีดและเข็มขนาด 27 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.40 มิลลิเมตร ในคลองรากฟันนาน 60 วินาที จากนั้นซับด้วยกระดาษซับและนำกระดาษซับไปใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟที่มีสารละลายพีบีเอส 1 มิลลิลิตร ทำการเขย่าหลอดเอพเพนดอร์ฟด้วยเครื่องเขย่าสาร เพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมยาที่ใส่ในคลองรากฟัน

ในการศึกษานี้มียาที่ใส่ในคลองรากฟันทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์และออกเมนติน กระบวนการเตรียมยาปฏิชีวนะโดยการชั่งยาในเครื่องชั่งมาตรฐาน (บริษัท ซาร์โทเรียส จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) ดังต่อไปนี้

1. ทรีมิกซ์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลิลิตร เตรียมจาก ผงยาเมโทรนิดาโซล (ชื่อการค้า metronidazole, บริษัท สหแพทย์เภสัช จำกัด สมุทรสาคร ประเทศไทย) มิโนซัยคลินและซิโพรฟลอกซาซิน โซล (ชื่อการค้า floxcipro, บริษัท สหแพทย์เภสัช จำกัด สมุทรสาคร ประเทศไทย) อย่างละ 500 มิลลิกรัมผสมกับน้ำเกลือ 15 มิลลิลิตร

2. ออกเมนติน (ขนาด 1 กรัม ประกอบด้วย ยาอะม็อกซีซิลลิน 875 มิลลิกรัมและคลาวูลานิคแอซิด 125 มิลลิกรัม) (บริษัท แกล็กโซสมิทไคล์น จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเตรียมจากผงยาออกเมนติน 1500 มิลลิกรัมผสมกับน้ำเกลือ 15 มิลลิลิตร

ทำการผสมในขวดปราศจากเชื้อและเข้าเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 30 วินาที ลักษณะยาที่ได้จะเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ขั้นตอนการกำจัดเชื้อ

การกำจัดเชื้อในคลองรากฟัน ใช้กระบอกฉีดและเข็มขนาด 25 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.50 มิลลิเมตร นำยาใส่ในคลองราก โดยทำการสุ่มเพื่อแบ่งกลุ่มของฟันตามยาที่ใช้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ทรีมิกซ์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในฟัน 30 ซี่

กลุ่มที่ 2 ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในฟัน 30 ซี่

กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการเพาะเชื้อเริ่มต้นและล้างสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอรซาลีนเท่านั้น จำนวน 5 ซี่

กลุ่มที่ 4 กลุ่มควบคุมลบที่บ่มด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อและล้างสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอรซาลีนจำนวน 5 ซี่

จากนั้นปิดทางเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในด้วยเควิตอน (GC, บริษัท แอคคอร์ด คอร์ปอเรชั่น จำกัด ไทย) หนา 4 มิลลิเมตรบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศา 14 วัน เมื่อครบตามเวลากำจัดเควิตและล้างคลองรากด้วยสารละลายพีบีเอสซับคลองรากให้แห้งด้วยกระดาษซับ

การเก็บเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย

หลังจากเสร็จขั้นตอนการกำจัดเชื้อ ล้างคลองรากด้วยสารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อ 2 มิลลิลิตร จากนั้นใส่สารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อในคลองรากฟัน ใช้เอชไฟล์ขนาด 15

ถูผนังโดยรอบและทำการตัดไฟล์ใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟที่มีสารละลายพีบีเอส 1 มิลลิมิลลิลิตร ลิตร จากนั้นทำการเขย่าหลอดที่มีฟันและทำการซับคลองรากด้วยกระดาษซับ จากนั้นนำกระดาษซับ ไปใส่ในหลอดที่มีไฟล์อยู่ก่อนหน้า เขย่าหลอดดดังกล่าวด้วยเครื่องเขย่าสารและเพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อด้วยลักษณะโคโลนี หากพบการปนเปื้อนโคโลนีของเชื้อชนิดอื่น จะทำการคัดฟันซี่นั้นออกจากการศึกษา

การตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

สุ่มเลือกฟันในกลุ่มควบคุมบวกและควบคุมลบที่ได้รับเชื้อนาน 21 วันกลุ่มละ 1 ซี่ และกลุ่มทดลองหลังการใส่ยาทรีมิกซ์และออกเมนตินนาน 14 วัน กลุ่มละ 1 ซี่ มาทำการล้างด้วยสารละลายพีบีเอส 3 ครั้ง ทำการตรึงเนื้อเยื่อด้วยน้ำยากลูตารัลดีไฮด์ ร้อยละ 2.5 นาน ข้ามคืน จากนั้นทำการดึงน้ำออก (dehydration) ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ30 นาน 15 นาที ร้อยละ 50 นาน 15 นาที ร้อยละ 70 นาน 15 นาที และร้อยละ 95 นาน 15 นาที โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 แช่ตัวอย่างในเฮกซะมีทิลไดซิลาเซน (Hexamethyldisilazane, HMDS) นานข้ามคืน และแบ่งฟันตามแนวแกนกลาง จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบทองและส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด(รุ่น JSM-6510 LV บริษัท JEOL จำกัด โตเกียว ประเทศญี่ปุ่น) ให้ได้ภาพอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron image, SEI)

การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่นับได้จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกรายงานในหน่วยจำนวน โคโลนีฟอร์มมิ่ง-ยูนิตต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นใช้ค่าลอการิทึม (Logarithm)ฐาน 10 ในการรายงานผลและทดสอบสถิติ หากไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเลยจะทำการแปลงค่าด้วยการบวก 1 เพื่อให้สามารถเข้าสมการลอการิทึมได้ การรายงานผลการลดลงของจำนวนโคโลนีเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสหลังใส่ยาปฏิชีวนะโดยการคำนวณตามสมการต่อไปนี้ [40]

ปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log_{10}reduction)

Log_{10} (CFU/ml) = Log_{10} (ก) – Log_{10} (ข)

เมื่อ ก คือ ปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น (CFU/ml)

ข คือ ปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย (CFU/ml)

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

โปรแกรมสำเร็จรูปเอสพีเอสเอส เวอร์ชั่น 22 ตรวจสอบการแจกแจงข้อมูลของค่าปริมาณเชื้อที่ใช้ค่าลอการิทึมฐาน 10 ด้วยโคโมโกรอฟ-สเมอร์นอฟ (Kolmogorov-Smirnov Test) แล้วเปรียบเทียบปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากฟันที่ลดลงหลังใส่ยาสองชนิด ด้วยการทดสอบแมนวิทนีย์ยู (Mann-Whitney U test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

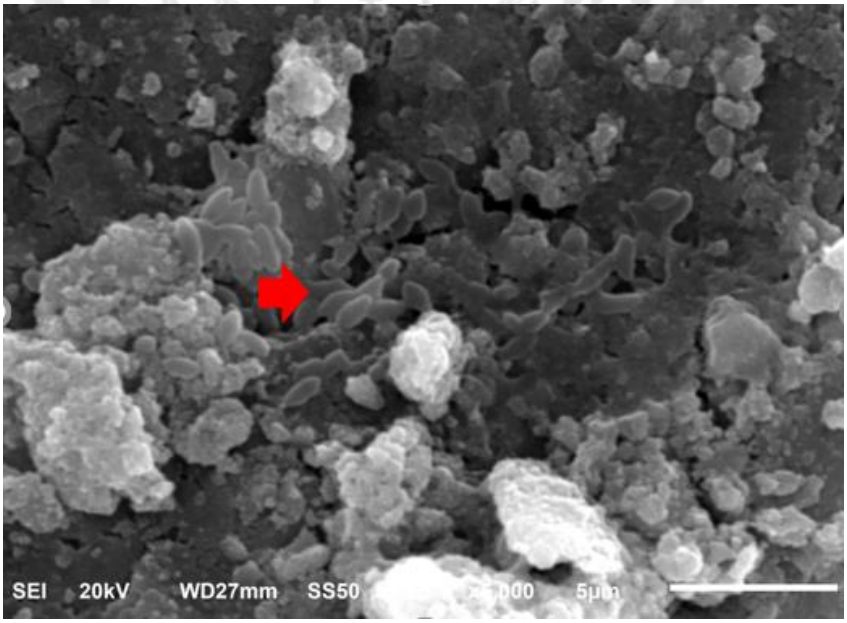
บทที่ 4
ผลการดำเนินงานวิจัย

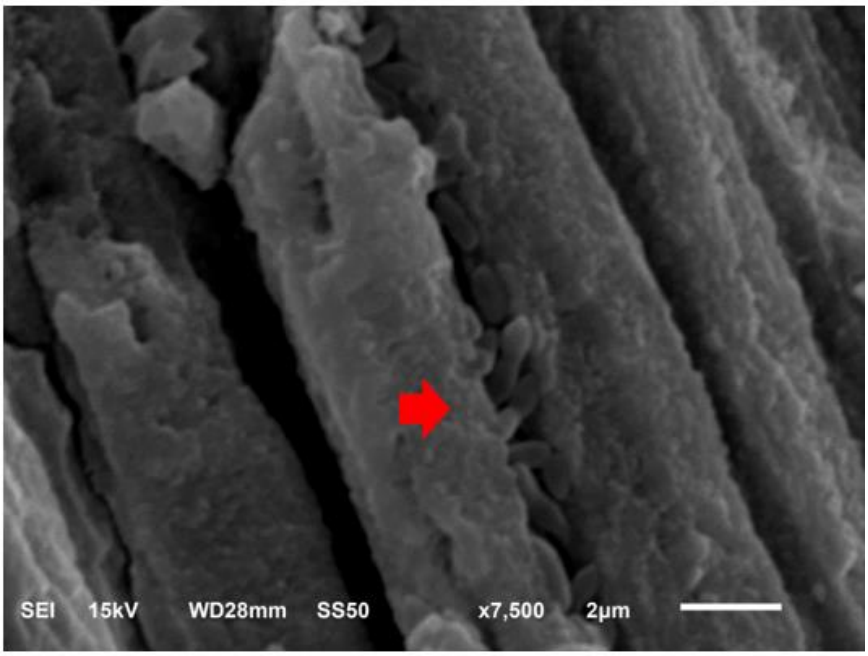
ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยเพื่อให้ได้มาซึ่งผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ โดยการศึกษาตามขบวนการและขั้นตอนต่าง ๆ จนกระทั่งได้ผลเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ได้กำหนดไว้ ได้ดังนี้

1. ผลการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด
2. ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ

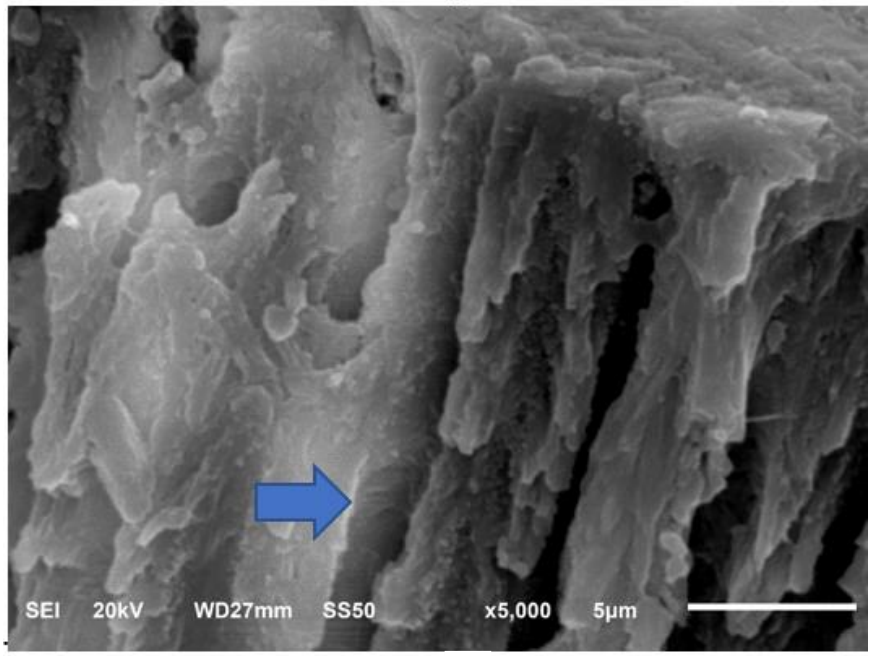
ผลการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ผลการตรวจหาเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดในกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการติดเชื้อเป็นเวลา 21 วัน พบว่ามีการแทรกตัวของเชื้อในท่อเนื้อฟันและการเกาะตัวเป็นกลุ่มของจุลชีพบนผนังคลองราก แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่ใช้ในการศึกษานี้พบการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อบนผนังคลองรากฟันได้และในกลุ่มควบคุมลบไม่พบกลุ่มเชื้อบนผนังคลองรากและในท่อเนื้อฟันดังภาพประกอบ 2 ในขณะที่ฟันกลุ่มทดลองที่ใส่ยาทรีมิกซ์และออกเมนตินเป็นเวลา 14 วันนั้นภาพถ่ายผนังคลองรากพบว่ามีและไม่มีเชื้ออยู่ในท่อเนื้อฟันอยู่ดังภาพประกอบ 3



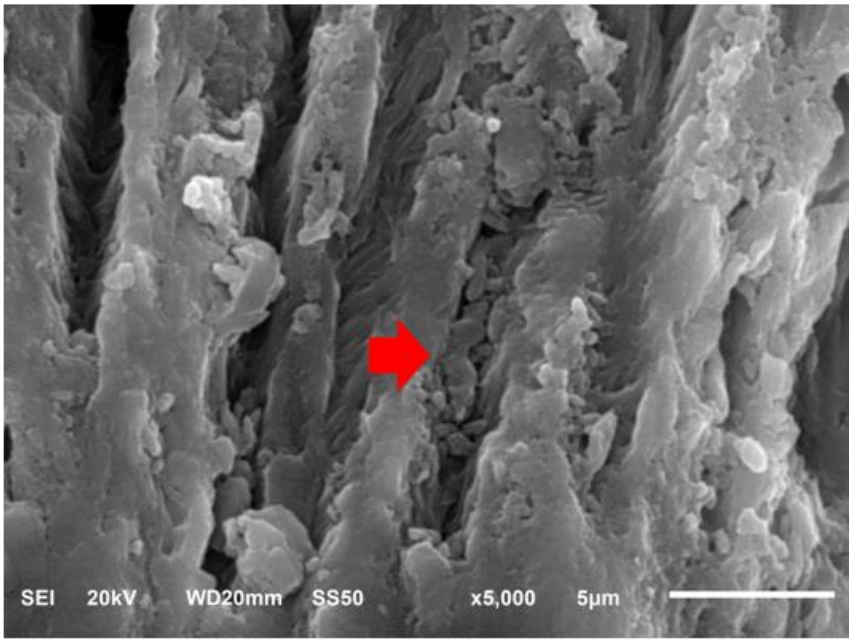


ข

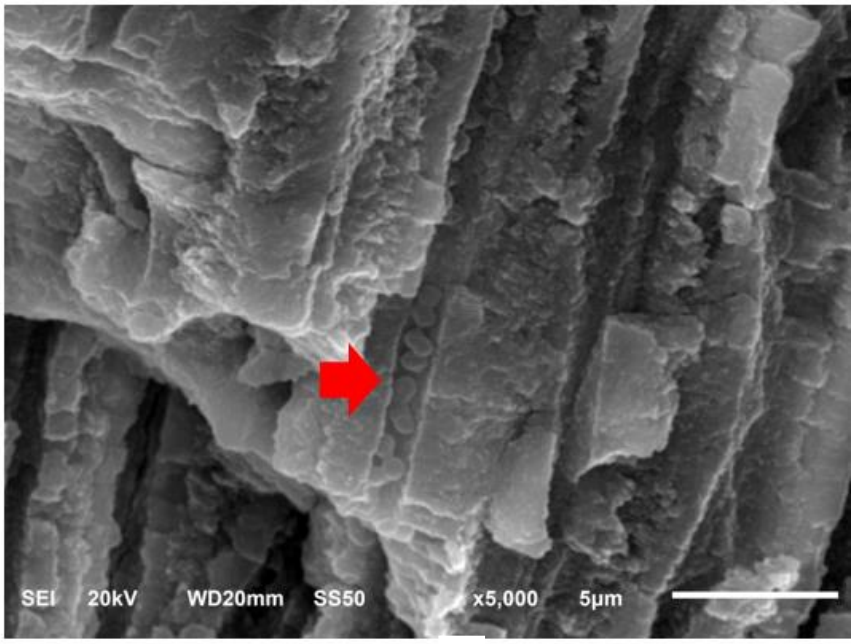


ค

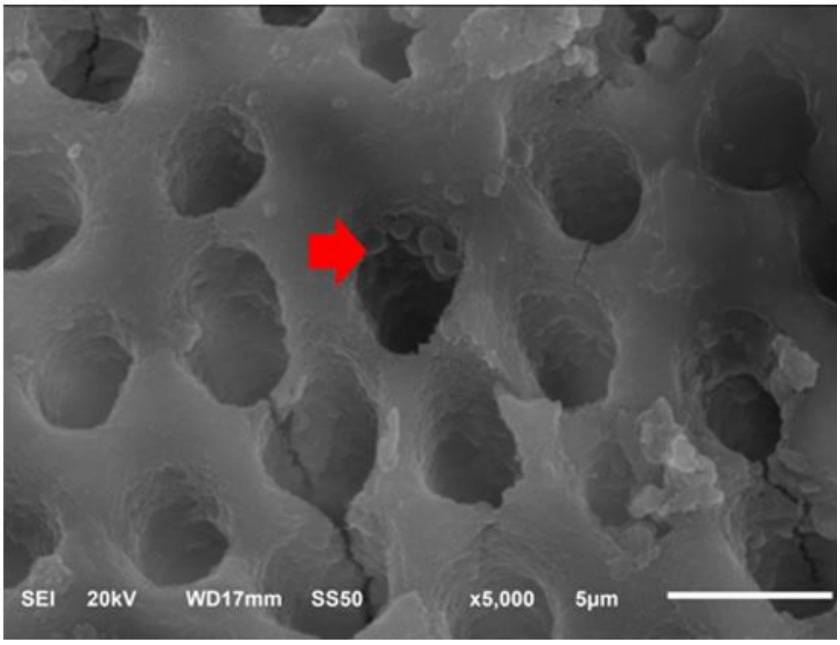
ภาพประกอบ 2 ภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรสีแดงชี้เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่ผิวคลองรากฟัน (ก) และในท่อเนื้อฟัน (ข) ของกลุ่มควบคุมบวก ที่กำลังขยาย7500 และ 5000 เท่าตามลำดับ ลูกศรสีน้ำเงินชี้ท่อเนื้อฟันที่ไม่พบเชื้อของกลุ่มควบคุมลบ (ค) ที่กำลังขยาย 5000


SEI 20kV WD20mm SS50 x5,000 5μm

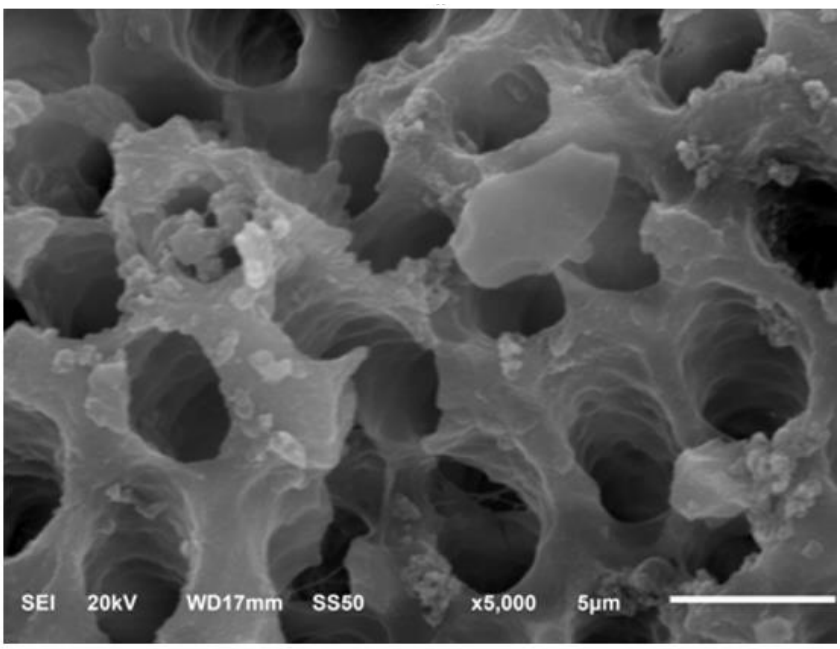
ก


SEI 20kV WD20mm SS50 x5,000 5μm

ข



ค



ง

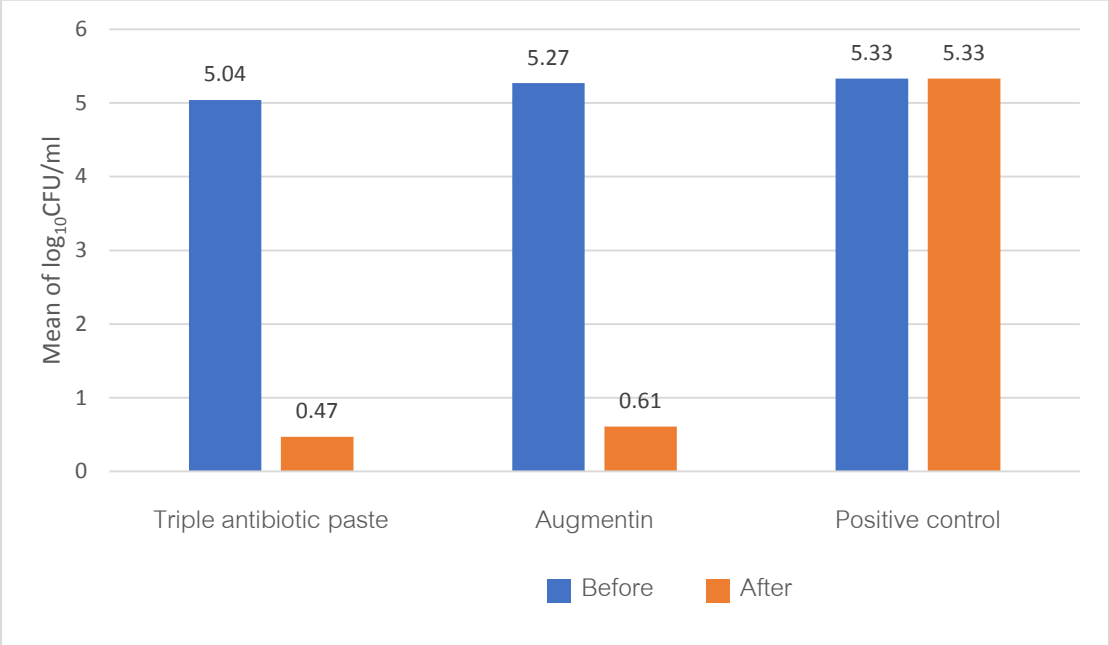
ภาพประกอบ 3 ภาพท่อเนื้อฟันส่วนคลองรากในแนวดิ่ง (กและข) และแนวตัดขวาง (คและง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรสีแดงชี้กลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส กลุ่มยาทรีมิกส์ (กและค) กลุ่มออกเมนตินในแนวดิ่ง (ขและง) ที่กำลังขยาย 5000 เท่า.

ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ

ผลการเพาะเชื้อในคลองรากเป็นนาน 21 วันพบว่ามีค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้นเท่ากับ 2.24 x 10^5 CFU/ml หรือ 5.16 log CFU/ml และไม่พบการเจริญของเชื้อในกลุ่มควบคุมลบเลย ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสก่อนและหลังการรักษาด้วยทรีมิกซ์และออกเมนติน แสดงดังตาราง 1 และ ภาพประกอบ 4

ตาราง 1 ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสก่อนและหลังการรักษาในหน่วย log CFU/ml

ชนิดของยา	ก่อน	หลัง
ทรีมิกซ์ (n=30)		
ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	5.04 (0.36)	0.47 (0.89)
ค่ามัธยฐาน (ค่าต่ำสุด, ค่าสูงสุด)	4.93 (4.48, 5.79)	0.00 (0.00, 2.38)
ออกเมนติน (n=30)		
ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	5.27 (0.40)	0.61 (1.00)
ค่ามัธยฐาน (ค่าต่ำสุด, ค่าสูงสุด)	5.28 (4.68, 5.91)	0.00 (0.00, 2.47)



ภาพประกอบ 4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสก่อนและหลังการรักษา

ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะนั้นพบว่าทรีมิกซ์และออกเมนตินมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.367) ค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (พิสัย: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (พิสัย: 2.56 – 5.91) log CFU/ml ตามตาราง 2 หรือคิดเป็นร้อยละ 99.96 และ 99.97 ตามลำดับ นอกจากนี้ทั้งทรีมิกซ์และออกเมนตินยังพบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเจริญของเชื้อคิดเป็นร้อยละ 76.6 และ 73.33 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.383) ดังตาราง 3

ตาราง 2 การเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ลดลง (log_{10} reduction) ระหว่างกลุ่มยา

ชนิดของยา	ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ค่ามัธยฐาน (ค่าต่ำสุด, ค่าสูงสุด)	P value
ทรีมิกซ์ (n=30)	4.57 (0.96)	4.86 (2.42, 5.79) *	0.367
ออกเมนติน (n=30)	4.66 (1.03)	4.92 (2.56, 5.91) *	
กลุ่มควบคุมบวก (n=5)	0.01 (0.002)	0.01 (0.00, 0.01)	

* ไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.367) โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตาราง 3 ร้อยละของจำนวนซี่ฟันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดของยา	**ร้อยละของจำนวนซี่ฟันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ**	P value*
ทรีมิกซ์)n=30)	76.67 (23/30) *	0.383
ออกเมนติน)n=30)	73.33 (22/30) *	

*ไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.383) สถิติ Chi-square test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

หลังจากได้ผลการดำเนินงานแล้ว สามารถสรุปผลการดำเนินงาน โดยแบ่งหัวข้อในการสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1 อภิปรายผลการวิจัย

2 สรุปผลการวิจัย

3 ข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของยาที่ใส่ในคลองรากฟันของมนุษย์เพื่อจำลองสถานการณ์การรักษาคลองรากให้เสมือนจริงมากที่สุด เพื่อให้เป็นตัวแทนการทำงานในคลินิกที่มีความยุ่งยากในการนำยาสัมผัสกับเชื้อด้วยลักษณะคลองรากที่ลึกต้องใช้ตัวนำส่งยาและวิธีการที่ซับซ้อนกว่าการทำในแผ่นฟันนำไปแช่ในสารละลายยาโดยตรง เนื่องจากการแพร่กจะจายอาจมีผลต่อผลการฆ่าเชื้อที่ได้ เลือกทำการทดสอบกับเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งเป็นเชื้อที่พบบ่อยที่สุดในคลองรากที่การรักษาคลองรากล้มเหลว[5,21] ทนทานต่อสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อและและสารเคมีที่ใช้ในการรักษาคลองรากฟัน หากยาสามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้น่าจะกำจัดเชื้ออื่นที่มีความทนทานน้อยกว่าได้ โดยทำการศึกษาแผ่นชีวภาพที่มีอายุ 3 สัปดาห์หรือ 21 วันซึ่งมีความทนทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการรักษาคลองราก[44]

การสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อในการศึกษานี้จะแยกฟันแต่ละซี่ในหลอด[42] เพื่อป้องกันการปนเปื้อนและพบว่าได้ปริมาณเชื้อที่แน่นอนกว่าการใส่ฟันหลายซี่รวมกันในภาชนะเดียว

เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่าเมื่อดำเนินการตามวิธีวิจัยเชื้อสามารถสร้างแผ่นชีวภาพบนผนังคลองรากได้จริงตามการศึกษาก่อนหน้า[39-42] ดังภาพประกอบ 2 กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการติดเชื้อพบกลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในท่อเนื้อฟันและบนผนังคลองราก จึงสามารถใช้เป็นตัวแทนของสถานการณ์ที่เกิดขึ้นจริงในทางคลินิกได้

การศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธีการนับเชื้อที่มีชีวิตจากการเพาะเชื้อซึ่งสามารถระบุจำนวนของเชื้อที่มีชีวิตอยู่ได้ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและมีความน่าเชื่อถือ โดยทำการยืนยันลักษณะของเชื้อด้วยลักษณะโคโลนีและการย้อมสีแกรม รวมไปถึงภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ในขั้นตอนของการเก็บตัวอย่างเชื้อจากคลองรากครั้งแรกก่อนการใส่ยานั้นใช้กระดาษซับเพียงอย่างเดียวในการเก็บสารละลายพีบีเอสที่อยู่ในคลองรากที่ได้รับการติดเชื้อเนื่องจากต้องการวัดผลเปรียบเทียบก่อนและหลังการใส่ยา หากใช้ไฟล์ในการเก็บเชื้อที่อยู่ในชั้นผนังคลองรากตั้งแต่ครั้งแรก อาจทำให้ปริมาณเชื้อที่อยู่บริเวณผนังลดลงและทำให้ผลของการเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริง การใช้กระดาษซับเพียงเดียว เก็บตัวอย่างเชื้อก่อนการใส่ยาในการวิจัยครั้งนี้พบปริมาณเชื้อสูงถึง 2.24 x 10^5 CFU/ml เนื่องจากการศึกษาของ Chivatxaranukul และคณะ[27] พบว่าเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสสามารถแทรกตัวเข้าไปอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ลึกถึง 156.2 ไมโครเมตรในคลองรากที่ได้รับการขยายและล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ดังนั้นในการเก็บเชื้อครั้งสุดท้ายจะใช้เอชไฟล์ขนาด 15 ถูผนังโดยรอบ เพื่อให้ได้เชื้อบริเวณผนังคลองรากฟัน นำชิ้นส่วนไฟล์ใส่หลอดที่จะใช้ในการเก็บตัวอย่าง และทำการซับด้วยกระดาษซับคลองราก เพื่อให้มั่นใจว่าได้ปริมาณเชื้อที่ถูกต้องจะทำการเขย่าหลอดที่ใส่สารตัวอย่างก่อนการเพาะเชื้อเพื่อทำการนับเสมอ

การเตรียมคลองรากก่อนการใส่ยานั้นเพื่อให้คลองรากฟันทั้งหมดมีขนาดเท่ากันคือที่ตำแหน่งความยาวทำงานเท่ากับ 0.40 มิลลิเมตรความผายร้อยละ 6 (ไฟลโปรเทปเปอร์ยูนิเวอร์แซล เอฟ 4) สามารถใส่เข็มล้างขนาด 27 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.40 มิลลิเมตร นำสารเคมีต่างๆที่ใช้ในการทดลองไปสู่บริเวณปลายรากได้ และในขั้นตอนการใส่ยาในคลองรากเลือกใช้เข็มล้างขนาด 25 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 มิลลิเมตรเข้าไปยังบริเวณที่สั้นความยาวทำงาน 1 มิลลิเมตรได้ โดยการใช้เข็มล้างและกระบอกฉีดในการใส่ยานั้นทำให้สามารถควบคุมปริมาณยาที่ใส่ในแต่ละคลองรากได้ แต่อย่างไรก็ตามในทางคลินิกคลองรากที่ต้องทำการรักษาอาจมีขนาดเล็กไม่สามารถใส่เข็มล้างลงไปได้ลึกเพียงพอ สามารถประยุกต์โดยการหยดยาปฏิชีวนะลงในคลองรากเท่าที่ลงได้และใช้ไฟล์ป้ายยาให้สามารถลงไปสู่คลองรากได้ลึกตามที่ต้องการเพื่อให้เกิดการสัมผัสกับเชื้อมากที่สุด

ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนว่าทรีมิกซ์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสสามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึงร้อยละ 99.96 หรือ 4.86 log CFU/ml และยังสามารถทำให้ผลการเพาะเชื้อในคลองรากเป็นลบได้ร้อยละ 76.67 (23 ซี่จากทั้งหมด 30 ซี่) สอดคล้องกับหลายการศึกษาก่อนหน้า[39, 64, 75] นอกจากนี้ AlSaeed และคณะ[76] ยังพบว่าทรีมิกซ์สามารถกำจัดเชื้อกลุ่มปฐมภูมิและกลุ่มทนทานได้ด้วย

ผลการศึกษายังพบอีกว่าออกเมนตินสามารถกำจัดเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้ดีมีค่าร้อยละการลดลงของเชื้อเท่ากับร้อยละ 99.97 หรือ 4.92 log CFU/ml และทำให้ผลการเพาะเชื้อใน

คลองรากเป็นลบได้ร้อยละ 73.33 (22 ซี่จากทั้งหมด 30 ซี่) สอดคล้องกับการศึกษาของ Saber และ El-Hady [17] นอกจากนี้การศึกษาของ AlSaeed และคณะ [76]ยังพบว่าออกเมนตินสามารถกำจัดเชื้อกลุ่มปฐมภูมิและกลุ่มทนทานได้เช่นเดียวกัน

อย่างไรก็ตามพบว่าผลการกำจัดเชื้อของทรีมิกซ์และออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.383) โดยค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (พิสัย: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (พิสัย: 2.56 – 5.91) log CFU/ml เช่นเดียวกับการศึกษาของ AlSaeed และคณะ[76]คาดว่าเป็นผลมาจากการที่เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกร้อยละ 100[13, 14, 34, 35] และออกเมนตินยังมีขอบข่ายในการออกฤทธิ์ที่กว้าง เชื้อที่พบในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อปฐมภูมินั้นมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และกรดคลาวูลานิกสูงถึงร้อยละ 100 เช่นเดียวกัน[13-16] นอกจากนี้ AlSaeed และคณะ [76]ยังพบว่าออกเมนตินให้ผลการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันน้อยกว่าทรีมิกซ์

ระยะเวลาในการใส่ยาปฏิชีวนะในคลองรากฟันนั้น งานปริทัศน์แบบทั้งระบบและการวิเคราะห์อภิมาน (systematic review and meta-analysis) ของ Torabinejad และคณะ[53]พบว่าการใส่ยาปฏิชีวนะในคลองรากฟันนาน 7 วันไปจนถึงเดือนนั้นให้ผลความสำเร็จทางคลินิกสูงในการรักษาวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติก หลายการศึกษาพบว่าการใส่ทรีมิกส์ในคลองรากนาน 7 วัน สามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสและเชื้อกลุ่มปฐมภูมิได้ดี[39, 64, 75] โดยผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใส่ยานาน 14 สามารถกำจัดเชื้อได้ดีเช่นเดียวกันสอดคล้องกับการศึกษาของ Sabrah และคณะ[67]ที่พบว่าการใช้ทรีมิกส์1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตรในคลองรากนาน 14 นอกจากจะกำจัดเชื้อได้ดีและยังมีผลการกำจัดเชื้อคงอยู่ (Residual antibacterial effect) ในคลองรากนาน14 วัน แต่อย่างไรก็ตามการใส่ยาทรีมิกส์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันเพิ่มตามเวลาที่เพิ่มขึ้น

ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษานี้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตรสามารถกำจัดเชื้อได้ดี สนับสนุนการศึกษาของ Alyas และคณะ[66] ที่พบว่าทรีมิกส์ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตรผลการกำจัดเชื้อคงอยู่นาน 4 สัปดาห์ และสามารถกำจัดเชื้อได้มากกว่าทรีมิกส์ 1, 10 และ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตร

อีกปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดเชื้อของยาในคลองรากคือ กระสายที่นำพายาแพร่กระจายไปในท่อเนื้อฟัน โดยกระสายที่นิยมใช้ได้แก่ โพรพีลีนไกลคอล น้ำกลั่น น้ำเกลือ และเมทิลเซลลูโลส โดย Sungur และคณะ[69] พบว่าโพรพีลีนไกลคอลและน้ำกลั่นเป็นกระสายยาที่ให้ผลการแพร่กระจายยาในท่อเนื้อฟันไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ Hwang และคณะ[23] พบว่าเมื่อใช้น้ำเกลือ

เป็นกระสายยาในการนำส่งทรีมิกซ์จะสามารถลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากได้มากกว่าเมทิลเซลลูโลสคาดว่าเป็นผลมาจากการไหลแผ่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่า ผลการศึกษาครั้งพบว่าการใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาให้ผลการฆ่าเชื้อได้ดี อาจเป็นผลจากโมเลกุลของยาออกเมนตินเป็นโมเลกุลแบบมีขั้วจึงละลายได้ดี เมื่อใช้น้ำเกลือเป็นตัวทำละลายและน้ำเกลือสามารถหาได้ง่าย ทำการเตรียมยาไม่ยุ่งยาก มีพร้อมในทุกคลินิก แม้ว่าพีเอชของน้ำเกลือและน้ำกลั่นจะมีค่าเป็นกรด แต่เมื่อผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลของพีเอชไม่แตกต่างกัน [77] อีกทั้งในการศึกษาของ Faria และคณะ [78] พบว่า ยาทรีมิกซ์มีค่าพีเอชเป็นกรด (4.64–5.20) เป็นผลให้การใช้ทรีมิกซ์ผสมน้ำเกลือหรือน้ำกลั่นน่าจะให้ผลกำจัดเชื้อได้ดี แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

เนื่องจากฟันที่ติดเชื้อในคลองรากส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อแบบปฐมภูมิ ดังนั้นการนำยาทรีมิกซ์ที่มีส่วนประกอบของยาหลายชนิดอาจเกินความจำเป็นและมีความยุ่งยากในการหาส่วนประกอบโดยเฉพาะยามิโนซัยคลินซึ่งหาซื้อได้ยากในประเทศไทย และทำให้เกิดการเปลี่ยนสี การพิจารณาใช้ยาปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียวน่าจะเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อในการติดเชื้อแบบปฐมภูมิ ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่าการใช้ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมที่ใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาสามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่มีความทนทานสูงได้ไม่แตกต่างจากทรีมิกซ์จึงคาดว่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกเป็นทางเลือกของยาที่ใช้ในการกำจัดเชื้อในคลองรากกรณีที่ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หรือการรักษาคลองรากซ้ำที่มีโอกาสพบเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งทนทานต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ลดความยุ่งยากในการจัดเตรียมทรีมิกส์ที่ต้องผสมยาหลายชนิด อย่างไรก็ตามการนำออกเมนตินไปใช้ควรสอบถามประวัติการแพ้ยาของผู้ป่วยเสมอ หากผู้ป่วยมีประวัติแพ้ยาเพนิซิลิน หรือ อะม็อกซีซิลลินควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาออกเมนตินและถึงแม้ว่าออกเมนตินจะให้ผลการติดสีที่น้อยแต่ก็มีโอกาสที่จะพบการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันควรมีการป้องกันเสมอ

สรุปผลการวิจัย

ภายใต้การจำลองสถานการณ์ในคลองรากฟัน พบว่าการใส่ยาปฏิชีวนะทรีมิกซ์และออกเมนตินในคลองรากฟันสามารถลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสไม่แตกต่างในทางสถิติ (P value=0.383) การใช้ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ที่ใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยา จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการกำจัดเชื้อทางคลินิก

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษานี้ทำการทดสอบกับเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสเพียงชนิดเดียวซึ่งเป็นเชื้อที่มีความทนทานต่อการทำความสะอาด การนำไปใช้ในทางคลินิกต้องคำนึงถึงความหลากหลายของเชื้อในคลองรากฟัน สามารถทำการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของประสิทธิภาพของยากับเชื้อหลายสายพันธุ์หรือในทางคลินิก ระยะเวลาที่ใส่ยาในคลองรากฟัน ความเข้มข้นของยา กระสายยาที่ใช้ วิธีที่เหมาะสมในการนำยาเข้าสู่คลองราก การแพร่กระจายของยาในท่อเนื้อฟัน และผลการต่อต้านเชื้อคงอยู่ของยาหลังจากทำการล้างยาออกจากคลองรากแล้ว เพื่อนำไปสู่การพัฒนายาที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อมากที่สุด

บรรณานุกรม

1. Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 1965;20:340-9.
2. Siqueira JFJ. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2002;94(3):281-93.
3. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endodontics and Dental Traumatology. 1990;6:142–9.
4. Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. Journal of Endodontics. 2003;29(3):194-200.
5. Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia A, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiology and Immunology. 2004;19(2):71-6.
6. Evans M, Davies J, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. International Endodontic Journal. 2002;35(3):221-8.
7. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. International Endodontic Journal. 1996;29(2):125-30.
8. Takushige T, Cruz E, Asgor Moral A, Hoshino E. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. International Endodontic Journal. 2004;37:132-8.
9. Özan U, Er K. Endodontic treatment of a large cyst-like periradicular lesion using a combination of antibiotic drugs: a case report. Journal of Endodontics. 2005;31:898-900.

10. Hargreaves K, Diogenes A, Teixeira F. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. Journal of Endodontics. 2013;39(3 Supplement):S30-43.

11. Kim J, Kim Y, Shin S, Park J, Jung I. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. Journal of Endodontics. Journal of Endodontics. 2010;36:1086–91.

12. Thomson A, Kahler B. Regenerative endodontics – biologically-based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. Australian Dental Journal. 2010;55(4):446-52.

13. Khemaleelakul S, Baumgartner JC, Pruksakorn S. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2002;94(6):746-55.

14. Skucaite N, Peciuliene V, Vitkauskiene A, Machiulskiene V. Susceptibility of endodontic pathogens to antibiotics in patients with symptomatic apical periodontitis. Journal of Endodontics. 2010;36(10):1611-6.

15. Sousa E, Gomes B, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C. Microbiological profile and antimicrobial susceptibility pattern of infected root canals associated with periapical abscesses. European journal of clinical microbiology and infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2013;32(4):573-80.

16. Park H, Lee B, Hwang Y, Hwang I, Oh W, Chang H. Treatment of non-vital immature teeth with amoxicillin-containing triple antibiotic paste resulting in apexification. Restorative Dentistry and Endodontics. 2015;40(4):322-7.

17. Saber S, El-Hady S. Development of an intracanal mature Enterococcus faecalis biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study. European Journal of Dentistry. 2012;6(1):43-50.

18. Akcay M, Arslan H, Yasa B, Kavrik F, Yasa E. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. Journal of Endodontics. 2014;40:845-8.

19. Kaushik S, Scoffield J, Andukuri A, Alexander G, Walker T, Kim S, et al. . Evaluation

of ciprofloxacin and metronidazole encapsulated biomimetic nanomatrix gel on Enterococcus faecalis and Treponema denticola. Biomaterials research. 2015;19(9):1-10.

20. Nagata J, Soares A, Souza-Filho F, Zaia A, Ferraz C, Almeida J, et al. . Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. Journal of Endodontics. 2014;40(6):778-83.

21. Molander A, Warfvinge J, Reit C, Kvist T. Clinical and radiographic evaluation of one- and two-visit endodontic treatment of asymptomatic necrotic teeth with apical periodontitis: a randomized clinical trial. Journal of Endodontics. 2007;33(10):1145-8.

22. Nair P, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study. Journal of Endodontics. 1990;16(12):580-8.

23. Rôças I, Siqueira J, Santos K. Association of Enterococcus faecalis With Different Forms of Periradicular Diseases. Journal of Endodontics. 2004;30(5):315-20.

24. Gomes B, Pinheiro E, Sousa E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, et al. Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2006;102(2):247-53.

25. Hubble T, Hatton J, Nallapareddy S, Murray B, Gillespie M. Influence of Enterococcus faecalis proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiology and Immunology. 2003;18(2):121-6.

26. Love R. Enterococcus faecalis– a mechanism for its role in endodontic failure. International Endodontic Journal. 2001;34(5):399-405.

27. Chivatxaranukul P, Dashper S, Messer H. Dentinal tubule invasion and adherence by Enterococcus faecalis. International Endodontic Journal. 2008;41(10):873-82.

28. Sedgley C, Lennan S, Appelbe O. Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo. International Endodontic Journal 2005;38:735–42.

29. Kayaoglu G, Erten H, Ørstavik D. Growth at high pH increases Enterococcus faecalis adhesion to collagen. International Endodontic Journal. 2005;38(6):389-96.

30. Distel J, Hatton J, Gillespie M. Biofilm Formation in Medicated Root Canals. Journal of Endodontics. 2002;28(10):689-93.

31. Waters C, Antiporta M, Murray B, Dunny G. Role of the Enterococcus faecalis GelE protease in determination of cellular chain length, supernatant pheromone levels, and degradation of fibrin and misfolded surface proteins. Journal of bacteriology. 2003;185(12):3613-23.

32. Wang L, Dong M, Zheng J, Song Q, Yin W, Li J, et al. Relationship of Biofilm Formation and gelE Gene Expression in Enterococcus faecalis Recovered from Root Canals in Patients Requiring Endodontic Retreatment. Journal of Endodontics. 2011;37(5):631-6.

33. Sedgley C, Lee E, Martin M, Flannagan S. Antibiotic resistance gene transfer between Streptococcus gordonii and Enterococcus faecalis in root canals of teeth ex vivo. Journal of Endodontics. 2008;34(5):570-4.

34. Pinheiro E, Gomes B, Drucker D, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F. Antimicrobial susceptibility of Enterococcus faecalis isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. International Endodontic Journal. 2004;37(11):756-63.

35. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia A, Ferraz C, Almeida J, Gomes B. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of Enterococcus faecalis Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. Journal of Endodontics. 2016;42(7):1022-8.

36. Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung G, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of Enterococcus faecalis isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. Journal of Endodontics. 2010;36(12):1950-5.

37. Sun J, Sundsfjord A, Song X. Enterococcus faecalis from patients with chronic periodontitis: virulence and antimicrobial resistance traits and determinants. European journal of clinical microbiology and infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2012;31(3):267-72.

38. Lins R, de Oliveira Andrade A, Hirata Junior R, Wilson M, Lewis M, Williams D, et al. Antimicrobial resistance and virulence traits of Enterococcus faecalis from primary

endodontic infections. Journal of dentistry. 2013;41(9):779-86.

39. Latham J, Fong H, Jewett A, Johnson J, Paranjpe A. Disinfection Efficacy of Current Regenerative Endodontic Protocols in Simulated Necrotic Immature Permanent Teeth. Journal of Endodontics. 2016;42(8):1218-25.

40. Pladisai P, Ampornaramveth R, Chivatxaranukul P. Effectiveness of Different Disinfection Protocols on the Reduction of Bacteria in Enterococcus faecalis Biofilm in Teeth with Large Root Canals. Journal of Endodontics. 2016;42(3):460-4.

41. Hwang D, Fong H, Johnson J, Paranjpe A. Efficacy of different carriers for the triple antibiotic powder during regenerative endodontic procedures. Australian endodontic journal 2017:1-7.

42. Valverde M, Baca P, Ceballos L, Fuentes M, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque C. Antibacterial efficacy of several intracanal medicaments for endodontic therapy. Dental Materials Journal. 2017;36(3):319-24.

43. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effectiveness of endodontic disinfecting solutions against young and old Enterococcus faecalis biofilms in dentin canals. Journal of Endodontics. 2012;38(10):1376-9.

44. Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. Effect of long-term exposure to endodontic disinfecting solutions on young and old Enterococcus faecalis biofilms in dentin canals. Journal of Endodontics. 2014;40(4):509-14.

45. Estrela C, Sydney G, Figueiredo J, Estrela C. A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms. Journal of Applied Oral Science. 2009;17(2):87-91.

46. Love R. Regional variation in root dentinal tubule infection by Streptococcus gordonii. Journal of Endodontics. 1996;22(6):290-3.

47. Peters O, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni–Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. International Endodontic Journal. 2001;34(3):221-30.

48. Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth

with periapical lesions. Journal of Endodontics. 2003;29(3):194-200.

49. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. International Endodontic Journal. 1996;29(2):118-24.

50. Tagelsir A, Yassen G, Gomez G, Gregory R. Effect of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontic Procedures on 3-week-old Enterococcus faecalis Biofilm. Journal of Endodontics. 2016;42(2):258-62.

51. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs of bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. Oral Microbiology and Immunology. 1993;8(3):172-6.

52. Parhizkar A, Nojehdehian H, Asgary S. Triple antibiotic paste: momentous roles and applications in endodontics: a review. Restor Dent Endod. 2018;43(3):e28-e.

53. Torabinejad M, Nosrat A, Verma P, Udochukwu O. Regenerative Endodontic Treatment or Mineral Trioxide Aggregate Apical Plug in Teeth with Necrotic Pulps and Open Apices: A Systematic Review and Meta-analysis. Journal of Endodontics. 2017;43(11):1806-20.

54. Freeman C, Klutman N, Lamp K. Metronidazole. Drugs. 1997;54(5):679-708.

55. Baumgartner J, Xia T. Antibiotic susceptibility of bacteria associated with endodontic abscesses. Journal of endodontics. 2003;29(1):44-7.

56. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance reviews. Microbiology and molecular biology 2001;65(2):232-60.

57. Łysakowska M, Ciebiada-Adamiec A, Sienkiewicz M, Sokołowski J, Banaszek K. The cultivable microbiota of primary and secondary infected root canals, their susceptibility to antibiotics and association with the signs and symptoms of infection. International Endodontic Journal. 2016;49:422–30.

58. Emmerson A, Jones A. The quinolones: decades of development and use. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2003;51:13-20.

59. Ruparel N, Teixeira F, Ferraz C, Diogenes A. Direct effect of intracanal

medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. Journal of Endodontics. 2012;38(10):1372-5.

60. American Association of Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 2018

61. Sabrah A, Yassen G, Gregory R. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of Enterococcus faecalis and Porphyromonas gingivalis. Journal of Endodontics. 2013;39(11):1385-9.

62. Sabrah A, Yassen G, Liu W, Goebel W, Gregory R, Platt J. The effect of diluted triple and double antibiotic pastes on dental pulp stem cells and established Enterococcus faecalis biofilm. Clinical Oral Investigations. 2015;19(8):2059-66.

63. Jacobs J, Troxel A, Ehrlich Y, Spolnik K, Bringas J, Gregory R, et al. Antibacterial Effects of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontics against Biofilm Bacteria Obtained from Mature and Immature Teeth with Necrotic Pulps. Journal of Endodontics. 2017;43(4):575-9.

64. Madhubala M, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative evaluation of propolis and triantibiotic mixture as an intracanal medicament against Enterococcus faecalis. Journal of Endodontics. 2011;37(9):1287-9.

65. Berkhoff J, Chen P, Teixeira F, Diogenes A. Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. Journal of Endodontics. 2014;40(8):1172-7.

66. Alyas S, Fischer B, Ehrlich Y, Spolnik K, Gregory R, Yassen G. Direct and indirect antibacterial effects of various concentrations of triple antibiotic pastes loaded in a methylcellulose system. Journal Oral Science. 2016;58(4):575-82.

67. Sabrah A, Yassen G, Spolnik K, Hara A, Platt J, Gregory R. Evaluation of Residual Antibacterial Effect of Human Radicular Dentin Treated with Triple and Double Antibiotic Pastes. Journal of Endodontics. 2015;41(7):1081-4.

68. Kaur S, Rao R, Nanda S. Amoxicillin: a board sprectrum antibiotic. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2011;3(3):30-7.

69. William A, Petri J. Penicillins, Cepharosporins and Other Beta-Lactam Antibiotics. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12 ed. Porto Alegre:

AMGH; 2012.

70. Cruz E, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E. Penetration of propylene glycol into dentine. International Endodontic Journal. 2002;35(4):330-6.

71. Parasuraman V, Muljibhai B. 3Mix- MP in Endodontics – An overview. Journal of Dental and Medical Sciences. 2012;3(1):36-45.

72. Nalawade T, Bhat K, Sogi S. Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry. 2015;5(2):114-9.

73. Sungur D, Aksel H, Purali N. Effect of a Low Surface Tension Vehicle on the Dentinal Tubule Penetration of Calcium Hydroxide and Triple Antibiotic Paste. Journal of Endodontics. 2017;43(3):452-5.

74. Algarni A, Yassen G, Gregory R. Inhibitory effect of gels loaded with a low concentration of antibiotics against biofilm formation by Enterococcus faecalis and Porphyromonas gingivalis Journal of Oral Science. 2015;57(3):213-8.

75. Valverde ME, Baca P, Ceballos L, Fuentes MV, Ruiz-linares M, Ferrer-liuque CM. Antibacterial ef cacy of several intracanal medicaments for endodontic therapy. Dental Materials Journal 2017;36(3):319–24.

76. AlSaeed T, Nosrat A, Melo MA, Wang P, Romberg E, Xu H, et al. Antibacterial Efficacy and Discoloration Potential of Endodontic Topical Antibiotics. Journal of Endodontics. 2018;44(7):1110-4.

77. Poorni S, Miglani R, Srinivasan M, Indira R. Comparative evaluation of the surface tension and the pH of calcium hydroxide mixed with five different vehicles:An in vitro study. Indian Journal of Dental Research. 2009;20(1):17-20.

78. Faria G, Rodrigues EM, Coaguila-Llerena H, Gomes-Cornélio AL, Neto Angéloco RR, Swerts Pereira MS, et al. Influence of the Vehicle and Antibiotic Formulation on Cytotoxicity of Triple Antibiotic Paste. Journal of Endodontics. 2018;44(12):1812-6.

ภาคผนวก

ตาราง 1 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้นในกลุ่มยาทรีมิกซ์ (log CFU/ml)

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
T1	$1.32*10^5$	$1.16*10^5$	$1.24*10^5$	5.09
T2	$6.56*10^5$	$5.72*10^5$	$6.14*10^5$	5.79
T3	$5.60*10^4$	$4.40*10^4$	$5.00*10^4$	4.70
T4	$3.72*10^5$	$5.84*10^5$	4.78*105	5.68
T5	$7.20*10^4$	$6.40*10^4$	$6.8*10^4$	4.83
T6	$5.60*10^5$	$3.84*10^5$	$4.72*10^5$	5.67
T7	$1.64*10^5$	$1.68*10^5$	$1.66*10^5$	5.22
T8	$9.20*10^4$	$1.64*10^5$	$1.28*10^5$	5.11
T9	$8.00*10^4$	$6.80*10^4$	$7.40*10^4$	4.87
T10	$1.48*10^5$	$1.28*10^5$	$1.38*10^5$	5.14
T11	$5.24*10^5$	$5.48*10^5$	$5.36*10^5$	5.73
T12	$8.00*10^4$	$6.00*10^4$	$7.00*10^4$	4.85
T13	$3.60*10^4$	$2.40*10^4$	$3.00*10^4$	4.48
T14	$7.60*10^4$	$6.40*10^4$	$7.00*10^4$	4.85
T15	$1.16*10^5$	$7.60*10^4$	$9.60*10^4$	4.98
T16	$5.20*10^4$	$4.40*10^4$	$4.80*10^4$	4.68
T17	$6.00*10^4$	$5.20*10^4$	$5.60*10^4$	4.75
T18	$8.00*10^4$	$7.20*10^4$	$7.60*10^4$	4.88
T19	$2.16*10^5$	$2.64*10^5$	$2.40*10^5$	5.38
T20	$9.20*10^4$	$1.96*10^5$	$1.44*10^5$	5.16
T21	$8.00*10^4$	$8.40*10^4$	$8.20*10^4$	4.91
T22	$1.12*10^5$	$1.12*10^5$	$1.12*10^5$	5.05
T23	$3.60*10^4$	$6.00*10^4$	$4.80*10^4$	4.68
T24	$4.64*10^4$	$4.64*10^4$	$4.64*10^4$	5.67

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
T25	$8.00*10^4$	$6.00*10^4$	$7.00*10^4$	4.85
T26	$6.80*10^4$	$3.60*10^4$	$5.20*10^4$	4.72
T27	$7.20*10^4$	$5.20*10^4$	$6.20*10^4$	4.79
T28	$1.56*10^5$	$1.20*10^5$	$1.38*10^5$	5.14
T29	$4.80*10^4$	$4.40*10^4$	$4.60*10^4$	4.66
T30	$8.80*10^4$	$9.20*10^4$	$9.00*10^4$	4.95

ตาราง 2 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น ในกลุ่มยาออกเมนติน

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
A1	$5.52*10^5$	$5.64*10^5$	$5.58*10^5$	5.75
A2	$4.00*10^5$	$4.48*10^5$	$4.24*10^5$	5.63
A3	$8.20*10^5$	$8.04*10^5$	$8.12*10^5$	5.91
A4	$6.40*10^4$	$9.60*10^4$	$8.00*10^4$	4.90
A5	$2.12*10^5$	$1.20*10^5$	$1.66*10^5$	5.22
A6	$6.48*10^5$	$5.96*10^5$	$6.22*10^5$	5.79
A7	$6.28*10^5$	$6.12*10^5$	$6.20*10^5$	5.79
A8	$2.88*10^5$	$2.44*10^5$	$2.66*10^5$	5.42
A9	$4.68*10^5$	$5.28*10^5$	$4.98*10^5$	5.70
A10	$2.08*10^5$	$1.72*10^5$	$1.90*10^5$	5.28
A11	$6.40*10^4$	$4.00*10^4$	$5.20*10^4$	4.72
A12	$2.16*10^5$	$2.12*10^5$	$2.14*10^5$	5.33
A13	$3.92*10^5$	$3.84*10^5$	$3.88*10^5$	5.59

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
A14	$6.24*10^5$	$5.92*10^5$	$6.08*10^5$	5.78
A15	$1.16*10^5$	$1.96*10^5$	$1.56*10^5$	5.19
A16	$1.16*10^5$	$6.00*10^4$	$8.80*10^4$	4.94
A17	$1.04*10^5$	$5.20*10^4$	$7.80*10^4$	4.89
A18	$8.00*10^4$	$1.00*10^5$	$9.00*10^4$	4.95
A19	$6.80*10^4$	$4.40*10^4$	$5.60*10^4$	4.748
A20	$4.80*10^4$	$4.80*10^4$	$4.80*10^4$	4.68
A21	$2.16*10^5$	$2.00*10^5$	$2.08*10^5$	5.32
A22	$3.92*10^5$	$4.08*10^5$	$4.00*10^5$	5.60
A23	$1.16*10^5$	$2.72*10^5$	$1.94*10^5$	5.29
A24	$4.0*10^4$	$6.80*10^4$	$5.40*10^4$	4.73
A25	$7.92*10^5$	$8.04*10^5$	$7.98*10^5$	5.90
A26	$6.40*10^4$	$5.60*10^4$	$6.00*10^4$	4.78
A27	$1.16*10^5$	$4.80*10^4$	$8.20*10^4$	4.91
A28	$6.80*10^4$	$6.80*10^4$	$6.80*10^4$	4.83
A29	$1.76*10^5$	$1.76*10^5$	$1.76*10^5$	5.25
A30	$2.00*10^5$	$2.04*10^5$	$2.02*10^5$	5.31

ตาราง 3 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น ในกลุ่มควบคุมบวก

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
P1	$1.76*10^5$	$1.60*10^5$	$1.68*10^5$	5.23
P2	$1.60*10^5$	$1.68*10^5$	$1.64*10^5$	5.21

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
P3	$1.92*10^5$	$1.56*10^5$	$1.74*10^5$	5.24
P4	$2.40*10^5$	$2.56*10^5$	$2.48*10^5$	5.39
P5	$3.88*10^5$	$3.80*10^5$	$3.84*10^5$	5.58

ตาราง 4 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้นในกลุ่มควบคุมลบ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
N1	0	0	0	0*
N2	0	0	0	0*
N3	0	0	0	0*
N4	0	0	0	0*
N5	0	0	0	0*

*ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเลยจะทำการแปลงค่าปริมาณเชื้อ (CFU/ml) + 1 เพื่อให้สามารถเข้าสมการลอการิทึมได้ คือ $\log_{10}1= 0$

ตาราง 5 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย ในกลุ่มยาทรีมิกซ์

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
T1	0	0	0	0
T2	0	0	0	0
T3	0	0	0	0

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
T4	0	0	0	0
T5	0	0	0	0
T6	0	0	0	0
T7	0	0	0	0
T8	0	0	0	0
T9	0	0	0	0
T10	0	0	0	0
T11	0	0	0	0
T12	0	0	0	0
T13	0	0	0	0
T14	40	20	30	1.477
T15	0	0	0	0
T16	0	0	0	0
T17	0	0	0	0
T18	0	0	0	0
T19	50	60	55	1.740
T20	0	0	0	0
T21	0	0	0	0
T22	0	0	0	0
T23	0	0	0	0
T24	80	90	85	1.93
T25	220	260	240	2.38
T26	230	170	200	2.30
T27	140	150	145	2.16

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
T28	190	150	170	2.23
T29	0	0	0	0
T30	0	0	0	0

ตาราง 6 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย ในกลุ่มยาออกเมนติน

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(logCFU/ml)
A1	0	0	0	0
A2	0	0	0	0
A3	0	0	0	0
A4	0	0	0	0
A5	0	0	0	0
A6	0	0	0	0
A7	290	300	295	2.47
A8	0	0	0	0
A9	130	150	140	2.15
A10	0	0	0	0
A11	0	0	0	0
A12	0	0	0	0
A13	0	0	0	0
A14	0	0	0	0
A15	0	0	0	0
A16	0	0	0	0

ตารางต่อ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(log CFU/ml)
A17	0	0	0	0
A18	0	0	0	0
A19	0	0	0	0
A20	0	0	0	0
A21	230	280	255	2.41
A22	220	200	210	2.32
A23	240	260	250	2.40
A24	80	110	95	1.98
A25	250	200	225	2.35
A26	0	0	0	0
A27	240	210	225	2.35
A28	0	0	0	0
A29	0	0	0	0
A30	0	0	0	0

ตาราง 7 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย ในกลุ่มควบคุมบวก

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(log CFU/ml)
P1	$1.68*10^5$	$1.64*10^5$	$1.66*10^5$	5.22
P2	$1.64*10^5$	$1.60*10^5$	$1.62*10^5$	5.21
P3	$1.68*10^5$	$1.76*10^5$	$1.72*10^5$	5.24
P4	$2.40*10^5$	$2.48*10^5$	$2.44*10^5$	5.39
P5	$3.80*10^5$	$3.84*10^5$	$3.82*10^5$	5.58

ตาราง 8 ปริมาณเชื้อที่นับได้ในหน่วย CFU/ml และค่าลอการิทึมของปริมาณเชื้อที่นับได้จากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย ในกลุ่มควบคุมลบ

ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)			ปริมาณเชื้อ (log CFU/ml)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	
N1	0	0	0	0
N2	0	0	0	0
N3	0	0	0	0
N4	0	0	0	0
N5	0	0	0	0

ตาราง 9 ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาทรีมิกซ์

ลำดับที่	ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log_{10}reduction)
T1	5.09
T2	5.79
T3	4.70
T4	5.68
T5	4.83
T6	5.67
T7	5.22
T8	5.11
T9	4.87
T10	5.14
T11	5.73
T12	4.85
T13	4.48
T14	3.37
T15	4.98
T16	4.68

ตารางต่อ

ลำดับที่	ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log_{10}reduction)
T17	4.75
T18	4.88
T19	3.64
T20	5.16
T21	4.91
T22	5.05
T23	4.68
T24	3.74
T25	2.47
T26	2.42
T27	2.63
T28	2.91
T29	4.66
T30	4.95
ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	4.57 (0.96)
ค่ามัธยฐาน(ต่ำสุด, สูงสุด)	4.86 (2.42, 5.79)

ตาราง 10 ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาออกเมนติน

ลำดับที่	ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log10reduction)
A1	5.75
A2	5.63
A3	5.91
A4	4.90
A5	5.22
A6	5.79

ตารางต่อ

ลำดับที่	ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log10reduction)
A7	3.32
A8	5.42
A9	3.55
A10	5.28
A11	4.72
A12	5.33
A13	5.59
A14	5.78
A15	5.19
A16	4.94
A17	4.89
A18	4.95
A19	4.748
A20	4.68
A21	2.91
A22	3.28
A23	2.89
A24	2.75
A25	3.55
A26	4.78
A27	2.56
A28	4.83
A29	5.25
A30	5.31
ค่าเฉลี่ย(ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	4.66 (1.03)
ค่ามัธยฐาน(ต่ำสุด, สูงสุด)	4.92 (2.56, 5.91)

ตาราง 11 ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลงของกลุ่มควบคุมบวก

ลำดับที่	ค่าปริมาณเชื้อที่ลดลง (Log10reduction)
P1	0.005
P2	0.005
P3	0.005
P4	0.007
P5	0.002
ค่าเฉลี่ย(ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	0.01 (0.002)
ค่ามัธยฐาน(ต่ำสุด, สูงสุด)	0.01 (0.00, 0.01)

ตาราง 12 ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาทรีมิกซ์

ลำดับที่	ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลง
T1	100
T2	100
T3	100
T4	100
T5	100
T6	100
T7	100
T8	100
T9	100
T10	100
T11	100
T12	100
T13	100
T14	99.957

ตารางต่อ

ลำดับที่	ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลง
T15	100
T16	100
T17	100
T18	100
T19	99.977
T20	100
T21	100
T22	100
T23	100
T24	99.982
T25	99.657
T26	99.615
T27	99.766
T28	99.877
T29	100
T30	100
ค่าเฉลี่ย	99.96

ตาราง 13 ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาออกเมนติน

ลำดับที่	ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลง
A1	100
A2	100
A3	100
A4	100
A5	100

ตารางต่อ

ลำดับที่	ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลง
A6	100
A7	99.952
A8	100
A9	99.972
A10	100
A11	100
A12	100
A13	100
A14	100
A15	100
A16	100
A17	100
A18	100
A19	100
A20	100
A21	99.877
A22	99.948
A23	99.871
A24	99.824
A25	99.972
A26	100
A27	99.726
A28	100
A29	100
A30	100
ค่าเฉลี่ย	99.97

ตาราง 14 ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลงในกลุ่มควบคุมบวก

ลำดับที่	ร้อยละปริมาณเชื้อที่ลดลง
P1	1.19
P2	1.22
P3	1.15
P4	1.61
P5	0.52
ค่าเฉลี่ย	1.14

ตาราง 15 ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลด้วยโปรแกรมเอสพีเอสเอส

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Log_{10}reduction	.253	60	.000	.867	60	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of reduct is the same across categories of med.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	.367	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

ภาพประกอบ 1 ผลการทดสอบสมมติฐานด้วยแมนวิทนีย์ ยู
ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ร้อยเอกหญิงพรรณปพร พิริยะโยธิน
วัน เดือน ปี เกิด	23 สิงหาคม 2533
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ทันตกรรมคลินิก) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	39/22 หมู่บ้านซื่อตรง 28 ซอยนวมินทร์ 143 ถนนนวมินทร์ นวลจันทร์ บึงกุ่ม กทม.