ประสิทธิภาพการต้านเชื้อของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน : *การศึกษาในห้องปฏิบัติการ*

ANTIBACTERIAL EFFICACY OF NEWLY DEVELOPED 2% CHLORHEXIDINE GEL AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS INOCULATED IN ROOT CANALS : *IN VITRO STUDY*

ชวพร คล่องพิทยาพงษ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2566

ประสิทธิภาพการต้านเชื้อของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน : *การศึกษาในห้องปฏิบัติการ*

ชวพร คล่องพิทยาพงษ์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ANTIBACTERIAL EFFICACY OF NEWLY DEVELOPED 2% CHLORHEXIDINE GEL AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS INOCULATED IN ROOT CANALS : *IN VITRO STUDY*

CHAWAPORN KLONGPITAYAPONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Clinical Dentistry)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2023

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพการต้านเชื้อของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ต่อ
เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน : *การศึกษาในห้องปฏิบัติการ*

ของ

ชวพร คล่องพิทยาพงษ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงชินาลัย ปิยะชน)

..... ประธาน
(อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.จารุมา ศักดิ์ดี)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร.สิริรัตน์ บุญดิเรก)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.กุลนันทน์ ดำรงวุฒิ)

ชื่อเรื่อง	ประสิทธิภาพการต้านเชื้อของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ต่อ เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน : *การศึกษาในห้องปฏิบัติการ*
ผู้วิจัย	ชวพร คล่องพิทยาพงษ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ชินาลัย ปิยะชน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. สิริรัตน์ บุญดิเรก

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทำการประเมินประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของยาใส่ในคลองรากฟัน 3 ชนิดคือ เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี และอัลตราแคลเอกซ์เอส ทำการทดลองในฟันถอนกรามน้อยล่างแท้รากเดียวจำนวน 60 ซี่ ทดสอบรอบละ 20 ซี่ ทดสอบซ้ำ 3 รอบ ในแต่ละรอบแบ่งกลุ่มทดลอง 3 กลุ่มและกลุ่มควบคุมลบคือไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน 1 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ซี่ เพาะเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัสฟีคัลลิสในคลองรากฟัน 21 วัน จากนั้นนำมาใส่ยาเป็นระยะเวลา 7 วัน ตรวจนับปริมาณเชื้อในหน่วยโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการทดสอบครัสคาล-วัลลิสและการทดสอบแมนวิทนีย์ยู ผลการศึกษาพบว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีมีค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอัลตราแคลเอกซ์เอสและกลุ่มควบคุมลบ โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี การศึกษาครั้งนี้สรุปว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่มีประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟันได้ดีไม่แตกต่างกับเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี

คำสำคัญ : เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส, โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร, เจลคลอเฮกซิดีน, การรักษาคลองรากฟัน

Title	ANTIBACTERIAL EFFICACY OF NEWLY DEVELOPED 2% CHLORHEXIDINE GEL AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS INOCULATED IN ROOT CANALS : *IN VITRO STUDY*
Author	CHAWAPORN KLONGPITAYAPONG
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2023
Thesis Advisor	Assistant Professor Chinalai Piyachon
Co Advisor	Doctor Sirirat Boondireke

This study aims to evaluate the antibacterial property of 2% Chlorhexidine gluconate (CHX) gel, newly developed at the Faculty of Dentistry at Srinakharinwirot University. The efficacy against *Enterococcus faecalis* of three different intracanal medicaments, the newly developed chlorhexidine gel, ConsepsisV chlorhexidine gel and UltraCal^{TM}XS, were evaluated with human tooth root models and extracted permanent lower premolars with single root canal were selected. Sixty teeth were randomly divided into three groups of 20 teeth, in order to repeat experiment protocol three times. The teeth were inoculated with *Enterococcus faecalis* for 21 days and assigned into four groups depended on root canal medicaments and one control group (n=5). Colony-forming units (CFU/ml) were counted after seven days of incubation. The data were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test and the results showed that the newly developed CHX gel and ConsepsisV gel showed the significant lower CFU/ml when compared to UltraCal^{TM}XS and the control group, without medicament. There was no significant difference between CFU/ml of newly developed CHX gel and ConsepsisV ($p=0.454$). It was concluded that our newly developed 2% CHX gel is an effective antibacterial agent against *Enterococcus faecalis* and comparable to ConsepsisV.

Keyword : Enterococcus faecalis, Colony Forming Unit, Chlorhexidine gel, Root canal treatment

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีเนื่องจากความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพญ.ชินาลัย ปิยะชน ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนได้ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆตั้งแต่เริ่มดำเนินการจนกระทั่งดำเนินการเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ จากใจจริง

ขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร.สิริรัตน์ บุญดิเรก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้ช่วยสอนและให้คำแนะนำตลอดในการดำเนินงานวิจัยในด้านจุลชีววิทยา

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิทยาเอ็นโดดอนต์และคณาจารย์ภาควิชาโอษฐวิทยาที่ได้เมตตาสอนสั่งให้ความรู้และคำแนะนำที่ดีตลอดช่วงเวลาของการศึกษา รวมไปถึงบุคลากรประจำภาควิชาและเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ให้เป็นไปอย่างราบรื่น

ขอขอบพระคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่สนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือ และสถานที่สำหรับดำเนินงานวิจัย อีกทั้งเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนงบประมาณเงินรายได้คณะทันตแพทยศาสตร์

ขอขอบคุณพี่ๆและเพื่อนๆสาขาวิทยาเอ็นโดดอนต์ รวมถึงบุคคลรอบข้างอีกหลายท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยมาโดยตลอด สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุพการีที่สนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมาจนทำให้การทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ชวพร คล่องพิทยาพงษ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

คำถามงานวิจัย 3

ความสำคัญของการวิจัย 4

ความมุ่งหมายของการวิจัย 4

ผลที่คาดว่าจะได้รับ 4

ขอบเขตของการวิจัย 4

ตัวแปรที่ศึกษา 4

นิยามศัพท์เฉพาะ 5

กรอบแนวคิดในงานวิจัย 5

สมมติฐานงานวิจัย 6

บทที่ 2 7

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7

การใส่ยาในคลองรากฟัน (Intracanal medication) 7

เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส 8
คลอเฮกซิดีน 9
กลไกการออกฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีน 10
คลอเฮกซิดีนในงานเอ็นโดดอนติกส์ 11
คลอเฮกซิดีนเจล (Chlorhexidine gel) 13
การทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีน 18
การนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ (Colony Forming Unit) 18
บทที่ 3 20
วิธีดำเนินการวิจัย 20
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 20
วัสดุและสารเคมีที่ใช้ 20
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในการวิจัย 21
การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 22
การเลือกฟันและการเตรียมฟัน (Selection and preparation of the teeth) 22
การเพาะเลี้ยงเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน (Preparation of *Enterococcus faecalis* and inoculation) 24
การเตรียมยาใส่ในคลองรากฟัน (Preparation of intracanal medication) 24
การใส่ยาในคลองรากฟันและประเมินผลการต้านเชื้อ (Intracanal medication and antimicrobial assessment) 25
การวิเคราะห์ผล 26
บทที่ 4 27
ผลการศึกษา 27
การเตรียมเจลคลอเฮกซิดีน 27

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสด้วยวิธีการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 27
บทที่ 5 31
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 31
สรุปผลการวิจัย 31
การอภิปรายผล 31
ข้อเสนอแนะ 34
บรรณานุกรม 35
ประวัติผู้เขียน 42

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ประเภทของอนุพันธ์ของเซลลูโลสตามหมู่แทนที่[54] 14

ตาราง 2 จำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในหน่วยโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร 28

ตาราง 3 การเปรียบเทียบ (P-value) เมื่อใช้สถิติการทดสอบแมน-วิทนีย์ยู 30

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย 5

ภาพประกอบ 2 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส 8

ภาพประกอบ 3 โครงสร้างโมเลกุลคลอเฮกซิดีน[39] 10

ภาพประกอบ 4 โครงสร้างเซลลูโลส[54] 15

ภาพประกอบ 5 โครงสร้างไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส[54] 16

ภาพประกอบ 6 เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 17

ภาพประกอบ 7 จำนวนโคโลนีของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 19

ภาพประกอบ 8 ชิ้นฟันตัวอย่างที่เตรียมสำหรับทดลอง 23

ภาพประกอบ 9 ชิ้นฟันตัวอย่างที่ใส่ยาในคลองรากฟัน 25

ภาพประกอบ 10 ลักษณะของเนื้อเจลเมื่อผสมเสร็จแล้ว 27

ภาพประกอบ 11 จำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสจากการเพาะเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อ (ภาพ A) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่ (ภาพ B) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีและ (ภาพ C) กลุ่มอัลตราแคลเอกซ์เอส 29

ภาพประกอบ 12 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร ของกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ (2% CHX gel SWU) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 อัลตราแคลเอกซ์เอสและกลุ่มไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน 30

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

การติดเชื้อจุลชีพเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโพรงเนื้อเยื่อฟัน[1] ซึ่งทำให้เกิดโรคของเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน การติดเชื้อที่พบภายในคลองรากฟันมีทั้งที่เจริญอยู่แบบเดี่ยว (planktonic cells) เกาะกลุ่มกัน หรือเจริญอยู่ร่วมกันในลักษณะแผ่นชีวภาพ (biofilm) โดยเชื้อชนิดปฐมภูมิ (primary infection) คือเชื้อที่พบในฟันที่ไม่เคยได้รับการรักษาคลองรากฟันมาก่อน ส่วนมากเป็นการติดเชื้อร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิด (polymicrobial infection) มีแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน แบคทีเรียที่เด่นมักจะอยู่ในกลุ่มแกรมลบที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (obligated anaerobe) ซึ่งแตกต่างจากเชื้อทุติยภูมิ (secondary infection) และเชื้อที่คงอยู่ในคลองรากฟันภายหลังการรักษา (persistent infection) ส่วนใหญ่พบแบคทีเรียชนิดแกรมบวกในกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (gram positive anaerobe) และกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ซึ่งเป็นสาเหตุให้การรักษาคลองรากฟันเกิดความล้มเหลว โดยแบคทีเรียที่พบมากคือเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส (*Enterococcus faecalis*) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สามารถทนต่อความเป็นด่างสูงและสามารถเข้าไปตั้งถิ่นฐานในท่อเนื้อฟันได้ จึงสามารถอยู่รอดจากกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันและสามารถกลับมาก่อให้เกิดการติดเชื้อซ้ำได้[2]

การรักษาคลองรากฟันมีวัตถุประสงค์ที่จะกำจัดเชื้อจุลชีพในคลองรากฟันโดยการใช้เครื่องมือตัดเนื้อฟันที่มีการติดเชื้อเป็นส่วนสำคัญ แต่ในบริเวณคลองรากแขนงและภายในท่อเนื้อฟันซึ่งมีขนาดเล็ก เป็นบริเวณที่ไม่สามารถใช้เครื่องมือสัมผัสได้โดยตรง จึงจำเป็นต้องมีการใช้น้ำยาที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อล้างคลองรากฟันและยาใส่ในคลองรากฟันเพื่อควบคุมและกำจัดเชื้อจุลชีพเพื่อให้เกิดการหายของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน[3] แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการเป็นยาฆ่าเชื้อใส่ในคลองรากฟัน โดยกลไกการทำงานของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกิดจากความเป็นด่างที่สูงและความสามารถในการแตกตัวเป็นไฮดรอซิลไอออน (hydroxyl ion) แต่เชื้อแบคทีเรียเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัสลิสสามารถทนทานต่อความเป็นด่างสูงของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้[4, 5]

คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) ถูกนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันและใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ ได้แก่ ออกฤทธิ์กว้างในการต้านจุลชีพ

มีคุณสมบัติการคงอยู่บนพื้นผิวได้นาน (substantivity) มีความเป็นพิษต่ำ ช่วยในการหล่อลื่น มีคุณสมบัติทางเคมีที่คงที่และละลายน้ำได้[6] เมื่อใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันพบว่าคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ในคลองรากฟันได้ดีกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์[4]

Krithikadatta และคณะ[7] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัสลิสเมื่อใช้เจลคลอเฮกซิดีน เจลเมโทรนิดาโซล ไบโอแอคทีฟกลาสและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อสูงสุดเท่ากับร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับยาใส่ในคลองรากฟันชนิดอื่น นอกจากนี้ Schäfer และ Bossmann[8] รายงานว่าสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 อย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสมากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์อย่างเดียวหรือสารผสมระหว่างสารละลายคลอเฮกซิดีนร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ สอดคล้องกับการศึกษาอื่น[9, 10] ที่พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์และสารผสมของแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับสารละลายคลอเฮกซิดีน

คลอเฮกซิดีนมีความเป็นเบสและมีความเสถียรในรูปของเกลือ ในการนำมาใช้งานจึงอยู่ในรูปของคลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine digluconate) สามารถละลายน้ำได้โดยรูปแบบของคลอเฮกซิดีนที่นำมาใช้ในทางทันตกรรมมีทั้งรูปแบบที่เป็นของเหลว (solution) นิยมใช้ในการล้างคลองรากฟันและรูปแบบที่เป็นเจลใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันระหว่างการรักษาแต่ละครั้ง[11] Paquette และคณะ[12] พบว่าการใช้สารละลายคลอเฮกซิดีนเป็นยาใส่ในคลองรากฟันทางคลินิกทำให้เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างการรักษา จึงแนะนำคลอเฮกซิดีนรูปแบบอื่น

Ferraz และคณะ[13] ประเมินการต้านเชื้อแบคทีเรียของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ในการใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน เปรียบเทียบกับสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถทำให้เกิดผนังคลองรากฟันสะอาดที่สุด เนื่องจากคุณสมบัติความหนืดของเจลทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำความสะอาดทางกลในคลองรากฟัน โดยยาจะสัมผัสกับผนังคลองรากฟันและท่อเนื้อฟันได้นานขึ้น ยาสามารถออกฤทธิ์ยาวนานกว่ารูปแบบสารละลาย สารก่อเจลที่ใช้คือนาโทรซอล (natrosol) หรือไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส (hydroxyethyl cellulose) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นโพลิเมอร์ที่เข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อและเป็นโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ ทำให้สามารถกำจัดออกจากคลองรากฟันได้ง่ายโดยการล้างด้วยน้ำกลั่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Ferraz และคณะ[14] ที่ประเมินการต้านเชื้อแบคทีเรียของเจลคลอเฮกซิดีน

เปรียบเทียบกับสารละลายคลอเฮกซิดีนและสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ โดยใช้วิธีทดสอบการแพร่บนวุ้นและวัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณโซนของการยับยั้ง (inhibition zone) พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีขนาดของบริเวณโซนของการยับยั้งกว้างที่สุด นอกจากนี้ยังพบอีกหลายการศึกษาที่ทดลองใช้เจลคลอเฮกซิดีนที่ผสมขึ้นเองโดยใช้สารก่อเจลคือไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส[15-18] หรือใช้เจลคลอเฮกซิดีนที่มีการผลิตและจำหน่ายในต่างประเทศ[19, 20]ซึ่งยังไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย

ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีผู้นำเข้าหรือผลิตเจลคลอเฮกซิดีนเพื่อจำหน่ายสำหรับเป็นยาใส่ในคลองรากฟัน ศิริลักษณ์และคณะ[21]ได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาสูตรเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และศึกษาเปรียบเทียบการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสด้วยวิธีการทดสอบการแพร่บนวุ้น พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มีประสิทธิภาพการต้านเชื้อได้ดีเท่ากับเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี (Consepsis V, Ultradent Products Inc. South Jordan, UT, USA) ความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผลิตและจำหน่ายในต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อในคลองรากฟันมนุษย์ของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส เปรียบเทียบกับเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปชื่อการค้าอัลตราแคลเอกซ์เอส (UltraCal^{TM}XS, Ultradent products Inc, South Jordan, UT) เพื่อนำไปสู่การผลิตเจลคลอเฮกซิดีนเป็นยาใส่ในคลองรากฟันในประเทศไทยต่อไป

คำถามงานวิจัย

เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่มีประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟันมนุษย์แตกต่างจากเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผลิตและจำหน่ายในต่างประเทศและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสหรือไม่

ความสำคัญของการวิจัย

การกำจัดเชื้อจุลชีพซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันเป็นสิ่งสำคัญที่ก่อให้เกิดการหายของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน แม้พบว่าการขยายและล้างคลองรากฟันสามารถลดเชื้อจุลชีพได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ยังคงมีเชื้อจุลชีพหลงเหลืออยู่และอาจเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระหว่างครั้งของการรักษาได้หากไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน[3] ดังนั้นการใส่ยาในคลองรากฟันจึงมีความจำเป็นเพื่อช่วยกำจัดเชื้อจุลชีพที่หลงเหลืออยู่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่ใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่พบว่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสสามารถต้านทานต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์[4] เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ออกฤทธิ์กว้างในการต้านจุลชีพเมื่อใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน โดยพบว่าคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่ดี[5]

ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีการผลิตเจลคลอเฮกซิดีนขึ้นมาเอง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะพัฒนาเจลคลอซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นยาใส่ในคลองรากฟันสำหรับใช้ภายในประเทศ

ความมุ่งหมายของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัสลิสของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสเมื่อใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัสลิสที่ดีสามารถนำไปพัฒนาเพื่อให้เกิดความสำเร็จในการรักษาคลองรากฟันเพิ่มขึ้นได้

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

ตัวแปรที่ศึกษา

1.ตัวแปรต้น คือ ชนิดของยาที่ใส่ในคลองรากฟัน

1.1 เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่

1.2 เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2

1.3 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส

1.4 ไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน (กลุ่มควบคุมลบ)

2.ตัวแปรตาม คือ จำนวนโคโลนีของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เพาะเชื้อจากในคลองรากฟัน

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ (Newly developed 2% chlorhexidine gel) หมายถึงเจลคลอเฮกซิดีนที่ผลิตขึ้นเองจากสารก่อเจลชนิดไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 2

กรอบแนวคิดในงานวิจัย

ตัวแปรต้น ตัวแปรตาม

ชนิดของยาที่ใส่ในคลองรากฟัน
1.เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่
2.เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2
3.แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส
4.ไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน (กลุ่มควบคุมลบ)

→ จำนวนโคโลนีของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เพาะเชื้อจากในชิ้นงานคลองรากฟัน

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

สมมติฐานงานวิจัย

สมมติฐานหลัก : ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปชิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานรอง : ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปชิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสแตกต่างกัน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใส่ยาในคลองรากฟัน (Intracanal medication)

จุดมุ่งหมายหนึ่งของการรักษาคลองรากฟัน คือ กำจัดเชื้อจุลชีพจากคลองรากฟันซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่จะก่อให้เกิดการหายของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน โดยการเตรียมคลองรากฟันและล้างคลองรากฟันเป็นขบวนการที่มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลชีพในคลองรากฟัน อย่างไรก็ตามบางบริเวณ เช่น ภายในท่อเนื้อฟัน คลองรากฟันแขนง ซึ่งเป็นบริเวณที่เครื่องมือหรือน้ำยาคลองรากฟันไม่สามารถเข้าถึงได้ ทำให้ยังคงมีเชื้อจุลชีพหลงเหลืออยู่และอาจเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระหว่างครั้งของการรักษาหากไม่ได้ใส่ยาในคลองรากฟัน[3]

วัตถุประสงค์ของการใส่ยาในคลองรากฟัน[22] คือ

1.กำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ยังเหลือค้างอยู่ในคลองรากฟันหลังจากการขยายคลองรากฟันแล้ว

2.ลดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน

3.ลดความเป็นพิษของเนื้อเยื่อในคลองรากฟันที่ตายแล้ว

4.เป็นด่านป้องกันการรั่วซึมจากวัสดุอุดชั่วคราวที่ไม่สมบูรณ์

5.ทำให้คลองรากฟันแห้ง

แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่นิยมใช้ในการรักษาคลองรากฟัน มีค่าความเป็นกรดด่างสูงประมาณ 12.5-12.8 มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำทำให้แตกตัวออกเป็นแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และ ไฮดรอกซิลไอออน (OH^-) อย่างช้าๆ โดยไฮดรอกซิลไอออนจะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ เปลี่ยนสภาพโปรตีนและทำลายสารพันธุกรรมของเชื้อจุลชีพ อย่างไรก็ตามแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถทนต่อสภาวะความเป็นด่างสูงได้ ร่วมกับการที่เนื้อฟันสามารถลดความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์จากกระบวนการบัฟเฟอร์ทำให้พีเอชที่เกิดจากการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่เพียงพอที่จะฆ่าเชื้อได้[23]

ในคลินิกทันตกรรมมีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์หลายรูปแบบ ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์แบบผงผสมน้ำกลั่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดผสมสำเร็จรูปที่ขายตามท้องตลาด โดยแต่ละชนิดมีส่วนประกอบและสัดส่วนของปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์แตกต่างกันไป เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส (UltraCal^{TM}XS, Ultradent products Inc, South Jordan, UT) (ภาพประกอบ 2) มีส่วนผสมของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 35 สารทึบรังสีแบเรียมซัลเฟต (barium sulfate) ร้อยละ 20 และส่วนของกระสายยาหรือ

สารก่อเจลคือเมทิล เซลลูโลส (methyl cellulose) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์จากเซลลูโลส มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ 12.5[24] โดย Blanscet และคณะ[25] ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด เมื่อใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่างชนิดและต่างความเข้มข้นกัน คือแคลเซียมไฮดรอกไซด์แบบผงผสมน้ำเกลือที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 50 และ 60 ตามลำดับ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดผสมสำเร็จรูป 2 ชนิดคืออัลตราแคลเอกซ์เอสและไวตาเพ็กซ์ (vitapex) เมื่อทดสอบด้วยวิธีทดสอบการแพร่บนวุ้น พบว่าอัลตราแคลเอกซ์เอสมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียมากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์แบบผงผสมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 40 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์แบบผงผสมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 60

ภาพประกอบ 2 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส

เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส

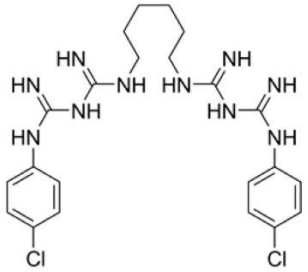
เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสเป็นเชื้อแกรมบวก มีรูปร่างวงกลม ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน สามารถพบในลักษณะเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่หรือเรียงตัวเป็นสายสั้นสามารถอยู่เดี่ยวๆได้โดยไม่ต้องอาศัยแบคทีเรียตัวอื่น เมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะพบลักษณะโคโลนี กลม เรียบ การติดเชื้อในคลองรากฟันแบบปฐมภูมิสามารถพบเชื้อชนิดนี้ ส่วนใหญ่พบได้ในฟันที่มีรอยโรครอบปลายรากแบบเรื้อรังและไม่มีอาการได้ร้อยละ 4 ถึง 89 [26] และพบได้บ่อยที่สุดในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อคงอยู่หลังการรักษาคลองรากฟัน[27, 28] โดยสาเหตุที่มักพบเชื้อชนิดนี้ที่มีความสัมพันธ์กับฟันที่มีความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน อาจเนื่องจากคุณสมบัติหลายประการที่ทำให้เชื้อคงอยู่ได้ภายหลังการรักษาคลองรากฟัน ได้แก่ ความสามารถในการยึดเกาะกับเซลล์ สามารถขัดขวางการทำงานของเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ความสามารถในการยึดเกาะกับคอลลาเจนที่อยู่ในท่อเนื้อฟันด้วยการหลั่งสารเซรีนโปรติเอส (serine protease) โปรตีนที่ยึดกับคอลลาเจน (collagen-binding proptein)[29] รวมถึงเชื้อมี

ขนาดเล็ก ทำให้เชื้อสามารถแทรกซึมเข้าไปในท่อเนื้อฟัน ส่งผลให้ยากต่อการกำจัดเชื้อออกจากคลองรากฟัน[30, 31] สามารถทนต่อยาที่ใส่ในคลองรากฟันและน้ำยาล้างคลองรากฟัน เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite) จากการศึกษาของ Moller และคณะ[32] ทำการศึกษาในฟันลิงโดยเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน โดยแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์แบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมที่เจริญได้ในสภาวะมีและไม่มีออกซิเจนสามารถทนต่อการรักษารากฟันได้ดีกว่าสายพันธุ์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน นอกจากนี้ยังมีความทนทานต่อสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อโดยสามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายในฟันที่ได้รับการอุดคลองรากฟันเป็นเวลานานถึง 6 เดือนซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ขาดแคลนอาหาร[33] ทั้งนี้ในสภาวะที่เป็นด่างเชื้อสามารถนำโปรตอนเข้าสู่เซลล์เพื่อลดความเป็นด่างภายในเซลล์ของเชื้อ ทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอชต่ำกว่า 11.5 ไม่สามารถกำจัดได้[23] และในสภาวะที่พีเอชอยู่ในช่วง 8.5 เชื้อจะสามารถจับกับคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่เป็นส่วนประกอบของผนังคลองรากฟันได้มากขึ้น[34] ทำให้สามารถพบการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อในผนังคลองรากฟันที่ได้รับการใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้ จากการศึกษาของ Distel และคณะ[35] พบการก่อตัวและการรวมตัวของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสบนผิวเนื้อฟันเมื่อใส่เชื้อเข้าไปในคลองรากฟันมนุษย์เป็นระยะเวลา 2 วัน และเมื่อทำการตรวจสอบเชื้อที่ย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบโฟกัสร่วมชนิดใช้เลเซอร์ในการสแกน (confocal laser scanning microscopy) พบว่ายังคงเกิดการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อบนผนังคลองรากฟันที่ได้รับการเพาะเลี้ยงเชื้อและใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 86 และในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงเชื้อและไม่ได้ใส่ยาในคลองรากฟันเป็นเวลา160 วัน อีกทั้งพบแผ่นชีวภาพมีโครงสร้างคล้ายเห็ด (mushroom-shape) มีความลึก 21 ถึง 30 ไมโครเมตร และจากการศึกษาของ Du และคณะ[36] พบว่าแผ่นชีวภาพของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่มีอายุมากคือมีอายุ 3 สัปดาห์จะทนทานมากกว่าแผ่นชีวภาพที่อายุน้อยคือมีอายุ 1 วัน นอกจากนี้เชื้อยังสามารถหลั่งเอนไซม์หรือสารอักเสบที่ก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อได้[37]

คลอเฮกซิดีน

คลอเฮกซิดีนเป็นสารสังเคราะห์จัดอยู่ในกลุ่มบิสไบกัวไนด์ (bis-biguanide) มีสูตรทางเคมีคือ $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ มีสภาวะเป็นประจุบวก (cationic) มีพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-7[4]ประกอบไปด้วย 4 คลอโรฟีนิลริงที่สมมาตรกัน (symmetric 4-chlorophynyl rings) 2 วง และกลุ่มไบกัวไนด์ (biguanide) 2 กลุ่ม เชื่อมกันด้วยพันธะเซนทรัล เฮกซะเมทีลีน (central hexamethylene chain)[38] โดยรูปแบบของคลอเฮกซิดีนที่นำมาใช้ในทางทันตกรรมมีทั้งรูปที่เป็นของเหลว

(solution) ซึ่งนิยมใช้ในการล้างคลองรากฟันและรูปที่เป็นเจลซึ่งจะใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันระหว่างการรักษาแต่ละครั้ง



ภาพประกอบ 3 โครงสร้างโมเลกุลคลอเฮกซิดีน[39]

กลไกการออกฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีน

กลไกการต้านเชื้อจุลชีพของคลอเฮกซิดีนเกิดจากโมเลกุลที่เป็นประจุบวก (cationic) ของคลอเฮกซิดีนจับกับฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) บนผนังเซลล์แบคทีเรียซึ่งเป็นประจุลบ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของแรงดันออสโมติกของเซลล์แบคทีเรีย เกิดการเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของผนังเซลล์ ส่งผลให้สารจากภายในเซลล์รั่วซึมออกสู่นอกเซลล์ คลอเฮกซิดีนในความเข้มข้นต่ำ (ความเข้มข้นร้อยละ 0.2) จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacteriostatic effect) เนื่องจากสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเช่น โพแทสเซียมและฟอสฟอรัสจะรั่วออกมาจากเซลล์ ส่วนคลอเฮกซิดีนที่มีความเข้มข้นสูง (ความเข้มข้นร้อยละ 2) จะทำให้เกิดการตกตะกอนของไซโตพลาสซึม โดยการส่งเสริมให้เกิดการจับตัวของโปรตีนภายในเซลล์จึงมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bacteriocidal effect)[10]

คลอเฮกซิดีนเป็นสารมีฤทธิ์เป็นเบสสูงและแสดงประจุบวกในสภาวะที่ค่าพีเอชพบในเซลล์ส่วนใหญ่ (physiological pH) ลักษณะเด่นคือมีคุณสมบัติการคงอยู่บนพื้นผิวได้นาน (substantivity) เนื่องจากไฮดรอกซิอะพาไทท์สามารถดูดซับประจุบวกของคลอเฮกซิดีนเข้าไปในเนื้อฟัน และค่อยๆปลอดปล่อยคลอเฮกซิดีนออกมาอย่างๆช้า[40] โดยคุณสมบัติการคงอยู่บนพื้นผิวในช่องปากได้นาน จะแปรผันตามความเข้มข้น นอกจากนี้การที่สามารถดูดซับประจุบวกของคลอเฮกซิดีนไว้ได้ทำให้เกิดการป้องกันการเกาะกลุ่มของเชื้อบนผนังคลองรากฟันแม้ว่าจะได้ล้างยาที่อยู่ในคลองรากฟันออกไปแล้ว การศึกษาของ Khademi และคณะ[41]ทำการล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นเวลา 5 นาที ผลการศึกษาพบว่าคลอเฮกซิดีนมีความสามารถในการออกฤทธิ์ได้ประมาณ 4 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rosenthal และคณะ[42]ภายหลังการล้างด้วยสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็น

เวลา 10 นาที พบว่าคลอเฮกซิดีนสามารถคงอยู่ในเนื้อฟันที่ผนังคลองรากฟันในปริมาณที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 12 สัปดาห์ โดยพบปริมาณคลอเฮกซิดีนในเนื้อฟันหลังการใช้ 1,3,6 และ 12 สัปดาห์เท่ากับ ร้อยละ 0.0048 0.0023 0.0016 และ 0.0010 ตามลำดับ

คลอเฮกซิดีนในงานเอ็นโดดอนติกส์

คลอเฮกซิดีนมีความเป็นเบสและมีความเสถียรในรูปของเกลือ ในการนำมาใช้งานจึงอยู่ในรูปของ คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine digluconate) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ ถูกนำมาใช้ในช่องปากครั้งแรกโดย Löe และ Schiott[43]เมื่อนำมาเป็นสารลดคราบแผ่นคราบจุลินทรีย์ (dental plaque) ในช่องปาก และเริ่มใช้อย่างแพร่หลายในงานรักษาคลองรากฟัน ส่วนใหญ่พบ 2 รูปแบบคือแบบสารละลายและเจล ซึ่งส่วนมากจะใช้รูปแบบสารละลายในการล้างคลองรากฟันและใช้รูปแบบเจลในการใส่ยาในคลองรากฟัน[11]

จากการศึกษาของ White และคณะ[44] ใช้สารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.12 และ 2 เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันขณะขยายคลองรากฟัน หลังจากขยายคลองรากฟันเสร็จใส่น้ำกลั่นลงในคลองรากฟัน จากนั้นนำแท่งกระดาษซับคลองรากฟัน (paper point) ซับของเหลวในคลองรากฟันที่ระยะเวลา 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำแท่งกระดาษซับคลองรากฟันไปทดสอบความสามารถในการกำจัดสเตร็พโตคอคคัส มิวแทนส์ (Streptococcus mutans) โดยการวัดบริเวณการยับยั้งเชื้อ (zone of inhibition) พบว่าสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 กำจัดเชื้อได้ดีกว่าความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในทุกช่วงเวลาโดยมีการเกิดบริเวณในการยับยั้งเชื้อมากกว่า Paquette และคณะ[12] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายคลอเฮกซิดีนเมื่อใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันมนุษย์จริงในคลินิก โดยใช้วิธีในการนับจำนวนโคโลนีจากการเพาะเลี้ยงเชื้อและวิธีการย้อมสีแบคทีเรียแล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิพิฟลูออเรสเซนต์ (epifluorescence microscopy) โดยแบ่งช่วงของการนับจำนวนเชื้อคือขั้นตอนการเปิดทางเข้าสู่คลองรากฟัน จากนั้นเรียกผู้ป่วยกลับมาเพื่อนับจำนวนเชื้ออีกครั้งในขั้นตอนการล้างและใส่ยาด้วยสารละลายคลอเฮกซิดีน ผลการศึกษาพบว่าการใช้สารละลายคลอเฮกซิดีนเป็นยาใส่ในคลองรากฟันทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียระหว่างการรักษา

Lenet และคณะ[45] ทำการทดลองในฟันวัวเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพที่หลงเหลืออยู่ของคลอเฮกซิดีนที่มีตัวนำส่งยา (delivery vehicle) แตกต่างกัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 4 กลุ่ม คือ คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 25 ที่มีระบบควบคุมการนำส่งยา (controlled release delivery) เป็นแท่งกัตตาเปอร์ชา คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2

รูปแบบเจล แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำเกลือและกลุ่มควบคุมคือน้ำเกลือ ใส่ยาเป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นทำการเพาะดูเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เจริญเติบโตในท่อเนื้อฟัน โดยวัดค่าความขุ่นของการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเมอร์ (spectrophotometer) ซึ่งเหตุผลในการใช้เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในการทดลองนี้ เนื่องจากเป็นเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อเรื้อรังบริเวณปลายรากฟันในฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันมาแล้วและเป็นเชื้อที่สามารถเพาะ (culture) ได้ง่าย ผลการศึกษานี้พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนมีค่าความขุ่นของการดูดกลืนแสงต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่ดีกว่ากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Vianna และคณะ[46] พบว่าสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และร้อยละ 1 สามารถกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้มีประสิทธิภาพเท่ากับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 ในขณะที่เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีฤทธิ์กำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ แต่ใช้เวลานานถึง 1 นาทีเมื่อเทียบกับสารละลายคลอเฮกซิดีน สอดคล้องกับการศึกษาของ Gomes และคณะ[47] เปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส เมื่อใช้ความเข้มข้นที่ต่างกันคือร้อยละ 0.2 1 และ 2 ตามลำดับทั้งในรูปแบบสารละลายคลอเฮกซิดีนและรูปแบบเจล พบว่าสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้เวลาในการต้านเชื้อน้อยกว่า 30 วินาที ขณะที่เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้เวลา 1 นาที อีกทั้งเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ใช้เวลา 2 ชั่วโมงในการแสดงผลเพาะเชื้อเป็นลบ (negative culture) ทั้งนี้ทั้งสองการศึกษาเป็นการศึกษาที่ใช้คลอเฮกซิดีนในการล้างคลองรากฟัน ไม่ได้ใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน

มีหลายการศึกษาที่นำคลอเฮกซิดีนมาผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อหวังผลให้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพมากขึ้น Evans และคณะ[48] ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสเมื่อเปรียบเทียบระหว่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่าสารในกลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ และจากการศึกษาของ Delgado และคณะ[9] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของยา 3 กลุ่ม คือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่ากลุ่มที่ใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มที่มีเจลคลอเฮกซิดีนและกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีหรือไม่มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ผสมมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อไม่แตกต่างกัน ขัดแย้งกับการศึกษาของ Ercan และคณะ[49] ที่ทำการการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสและแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) ของยา 3 กลุ่ม คือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพทั้งสองชนิดมากที่สุด ตามด้วยกลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นตามลำดับ รวมถึงการศึกษาของ Gomes และคณะ[10]พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ถึง 15 วัน โดยมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์และสารผสมของแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับสารละลายคลอเฮกซิดีน

นอกจากการศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อของเจลคลอเฮกซิดีนแล้ว จากการศึกษาของ Bem และคณะ[50] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของเจลคลอเฮกซิดีนที่ผลิตขึ้นเองจากสารก่อเจลไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส เจลคลอเฮกซิดีนที่จำหน่ายในท้องตลาดและสารละลายคลอเฮกซิดีน โดยเก็บเป็นระยะเวลา 1 3 และ 6 เดือนและเก็บในสภาวะที่ต่างกัน 4 สภาวะ คือที่อุณหภูมิห้องโดนแสง ที่อุณหภูมิห้องไม่โดนแสง ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 36.5 องศาเซลเซียสไม่โดนแสงและในตู้เย็นที่อุณหูมิ 8 องศาเซลเซียส ทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (gas chromatography-mass spectrometry) เพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสาร พบว่าสารทั้งสามชนิดเมื่อเวลาผ่านไปทุกช่วงเวลาและทุกสภาวะเกิดผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเสื่อมของสาร (degradation product) คือพาราคลอโรอนิลีน (para-chloroaniline, pCA) แต่ในสารละลายคลอเฮกซิดีน พบแนวโน้มการเกิดพาราคลอโรอนิลีนที่มากกว่าสารกลุ่มอื่นเมื่อเวลาผ่านไป

คลอเฮกซิดีนเจล (Chlorhexidine gel)

เจลคือสารโพลิเมอร์ (polymer) ชนิดหนึ่งอยู่ในรูปแบบของตำรับยากึ่งแข็ง (semisolid) ถูกนำมาใช้เพื่อเป็นสารเพิ่มความหนืด (vicosity enchancing agent) ในตำรับยาน้ำใส (solution) โดยเจลในทางตำรับยาควรมีลักษณะข้นเหนียวใส ไม่เป็นมัน สามารถล้างออกได้ง่าย และเป็นยาใช้เฉพาะที่หรือเฉพาะภายนอกเท่านั้น โดยส่วนมากเจลที่ใช้ในทางการแพทย์จะเป็นชนิดไฮโดรเจล (hydrogel)[51] คือมีสายโพลิเมอร์เป็นแกนกลางและมีน้ำเป็นตัวกลางล้อมรอบสายนี้ ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำมากกว่าร้อยละ 90[52]

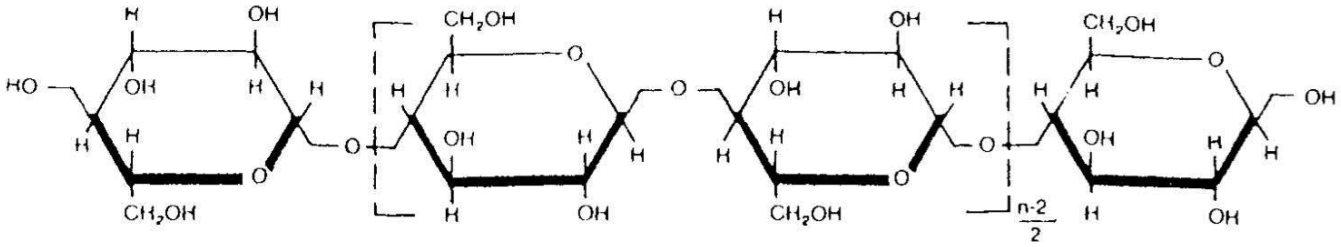
ส่วนประกอบของตำรับเจล[53]

1. ตัวยา หรือ สารสำคัญ
2. ตัวกลางการกระจายตัว หรือ กระสายยา โดยทั่วไปคือน้ำ
3. สารปรุงแต่ง (pharmaceutical necessities) เช่น สารกันเสีย สารกันน้ำระเหย (humectant) เช่น พรอพีลีนไกลคอล (propylene glycol)
4. สารก่อเจล (gelling agent) สามารถแบ่งสารก่อเจลตามแหล่งที่มาดังนี้
   4.1สารก่อเจลที่ได้จากธรรมชาติ (Natural polymer)
   4.2 สารก่อเจลกึ่งสังเคราะห์ (Semisynthetic polymer)
   4.3 สารก่อเจลสังเคราะห์ (Synthetic macromolecule)
   4.4 สารก่อเจลที่เป็นสารอนินทรีย์ (Inorganic substance)

อนุพันธ์ของเซลลูโลส (cellulose derivatives) เป็นสารก่อเจลประเภทกึ่งสังเคราะห์ที่ได้จากเซลลูโลส และแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ที่อยู่ในโครงสร้างด้วยหมู่แทนที่ (substituent group) ต่างๆ ทำให้ได้อนุพันธ์ที่มีคุณสมบัติต่างกันไป โดยปกติแล้วเซลลูโลสไม่ละลายน้ำ เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างโมเลกุลจะเกิดพันธะไฮโดรเจนจนก่อให้เกิดโครงสร้างผลึก ป้องกันการเกิดไฮเดรชัน (hydration) ของน้ำได้ ดังนั้นการแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลบางตัวในโมเลกุล ส่งผลให้ลดการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโครงสร้างเซลลูโลสด้วยกันเอง ทำให้เกิดไฮเดรชันโดยโมเลกุลน้ำได้ง่ายขึ้น ทำให้กลายเป็นอนุพันธ์ที่ละลายน้ำได้ สามารถแบ่งประเภทของอนุพันธ์ของเซลลูโลสตามหมู่แทนที่[54] ดังตาราง 1 คือ

ตาราง 1 ประเภทของอนุพันธ์ของเซลลูโลสตามหมู่แทนที่[54]

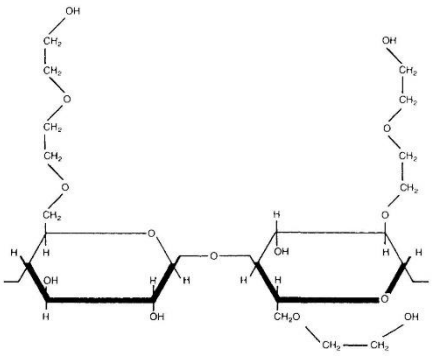
หมู่แทนที่	ชื่อสารโพลิเมอร์ (polymer name)
$O\text{-}CH_2\text{-}COONa$	Carboxymethylcellulose, cellulose gum
$\text{-}OCH_3$	Methylcellulose
$\text{-}O\text{-}C_2H_5$	Ethylcellulose
$\text{-}O\text{-}C_2H_4\text{-}OH$	Hydroxyethylcellulose
$\text{-}O\text{-}CH(CH_3)\text{-}CH_2OH$	Hydroxypropylcellulose



ภาพประกอบ 4 โครงสร้างเซลลูโลส[54]

การใช้สารก่อเจลที่แตกต่างกันจะทำให้มีการปลดปล่อยยาคลอเฮกซิดีนในอัตราที่ต่างกัน จากการศึกษาของ Fini และคณะ[55] ทดสอบสูตรในการสร้างเจลคลอเฮกซิดีนที่ทำหน้าที่เป็นโพลิเมอร์ในการยึดเกาะกับเยื่อเมือกในช่องปากได้ (mucoadhesive agent) ที่แตกต่างกัน 9 สูตร จากสารก่อเจลต่างชนิดกัน คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส(Carboxymethylcellulose, CMC) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (Hydroxypropylmethylcellulose, HPMC) และไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส (Hydroxypropyl, HPC) เพียงอย่างเดียวหรือผสมสารก่อเจลสองชนิด เตรียมเนื้อเจลโดยการละลายสารก่อเจลในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส คนสารละลายให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายคลอเฮกซิดีน จากนั้นปล่อยให้เจลเย็นตัวและนำไปใช้งานหลังผ่านไป 24 ชั่วโมง ประเมินการปลดปล่อยยาคลอเฮกซิดีนโดยใช้วิธีมาตรฐานของเภสัชตำรับสหรัฐอเมริกา (USP standard method) พบว่าการผสมสารก่อเจลสองชนิดของไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลสและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสมีการปลดปล่อยยาช้าที่สุดคือมากกว่า 4 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารก่อเจลชนิดเดียวที่มีระยะเวลาการปลดปล่อยยาใกล้เคียงกันคือ 2 ชั่วโมง โดยสูตรในการสร้างเจลคลอเฮกซิดีนที่แตกต่างกันทั้ง 9 สูตรซึ่งเป็นสารก่อเจลจากอนุพันธ์ของเซลลูโลส เหมาะสำหรับการนำส่งยาในช่องปาก (buccal delivery) เพราะมีความสามารถในการเคลือบเยื่อบุผิวและมีการซึมผ่านผิวหนังที่จำลองจากเนื้อเยื่อหมูได้ ทำให้สามารถปลดปล่อยคลอเฮกซิดีนเป็นเวลานาน โดยการเลือกสารก่อเจลและการผสมสารก่อเจลช่วยให้สามารถออกแบบการปลดปล่อยยาคลอเฮกซิดีนที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน

ไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส (hydroxyethyl cellulose, HEC) หรือนาโทรซอล (natrosol) เป็นสารก่อเจลที่ไม่มีประจุ เฉื่อย (inert) หรือสารที่มีความไวต่อปฏิกิริยาต่ำ สามารถละลายน้ำได้ดี ละลายได้ทั้งน้ำร้อนและน้ำเย็น ไม่เกิดเจลที่อุณหภูมิสูง ไม่ละลายในสารละลายอินทรีย์และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility)[56]



ภาพประกอบ 5 โครงสร้างไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส[54]

ด้วยคุณสมบัติที่ดีของไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสที่กล่าวข้างต้น จากหลายการศึกษาได้ทดสอบประสิทธิภาพของคลอเฮกซิดีนในรูปแบบเจลที่ผลิตขึ้นเองโดยใช้ไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสเป็นสารก่อเจล การศึกษาของ Dametto และคณะ[16] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผลิตจากสารก่อเจลไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส สารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 เมื่อใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันและทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเมื่อทำการกำจัดเชื้อทางกลร่วมกับใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันทันทีมีปริมาณของเชื้อลดลงทุกกลุ่ม แต่เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันพบว่ามีเพียงกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ไม่พบเชื้อแล้ว ตรงข้ามกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ที่พบจำนวนเชื้อเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตอนล้างคลองรากฟันในทันที เนื่องจากคลอเฮกซิดีนมีคุณสมบัติในการคงอยู่ในช่องปากได้นานทำให้ยังคงประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ถึง 7 วัน และจากการศึกษาของ Silva และคณะ[18] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และเจลด็อกซีไซคลิน ไฮโดรคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 ที่ผลิตจากสารก่อเจลไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสเช่นเดียวกัน พบว่าจำนวนเชื้อลดลงทั้งสองกลุ่มแต่เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีจำนวนเชื้อลดลงมากกว่าแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการใช้นาโทรซอลหรือไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสเป็นสารก่อเจลของคลอเฮกซิดีนไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสลดลง

ในส่วนของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผลิตและจำหน่ายในต่างประเทศชื่อการค้าคอนเซปซิสวี (ภาพประกอบ 6) จากการศึกษาของ Sharifian และคณะ[20] นำเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันมนุษย์เปรียบเทียบกับยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีสามารถกำจัดเชื้อ

เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ ทั้งนี้ทางบริษัทผู้ผลิตไม่ได้ระบุว่าเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีนี้ใช้สารก่อเจลชนิดใด สอดคล้องกับการศึกษาของ Ooi และคณะ[57] เปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของยา 3 กลุ่ม คือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 และเพดิโอซิน (pediocin) พบว่ายาทั้ง 3 กลุ่มสามารถกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้เมื่อใส่ยาเป็นระยะเวลา 5 วัน รวมถึงการศึกษาของ Ferreira และคณะ[58] เป็นการศึกษาทางคลินิกเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 ในฟันติดเชื้อชนิดปฐมภูมิและตรวจแยกเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดพร้อมกันด้วยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียเป้าหมายที่เป็นคู่สมกันจากการติดโพรบ (probe)ให้ดีเอ็นเอ (checkerboarded DNA-DNA hybridization) พบว่ายาทั้ง 2 กลุ่มมีประสิทธิภาพการต้านเชื้อไม่แตกต่างกันและพบกลุ่มสปีชีส์แบคทีเรียหลังจากใส่ยาในคลองรากฟันไปแล้วมากที่สุดคือกลุ่มสปีชีส์ ฟิวโซแบคทีเรียม นิวคลีเอตัม วินเซนติอาย (*Fusobacterium nucleatum sub ssp. vincentii*) ร้อยละ 90 และลำดับรองลงมาคือเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีเซียม (*Enterococcus faecium*) ร้อยละ 80 ตามลำดับ ในขณะที่เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสพบประมาณร้อยละ 30-60

ภาพประกอบ 6 เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2

การทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีน

การทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสสามารถประเมินได้หลายวิธี ขึ้นกับเทคนิคที่ใช้และความยากง่ายของการทดสอบ จากการศึกษาของ Basrani และคณะ[5] ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของยา 5 กลุ่ม คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ 2 สารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกับเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ด้วยการทดสอบ 2 วิธี คือทดสอบการแพร่ผ่านบนวุ้นโดยประเมินจากเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณโซนของการยับยั้งและทดสอบในคลองรากฟันโดยประเมินจากค่าความขุ่นของการดูดกลืนแสง (optical density) หลังใส่ยาเป็นระยะเวลา 7 วัน ผลการศึกษาจากการทดสอบแพร่ผ่านบนวุ้นพบว่าคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ทั้งในรูปแบบเจลและสารละลายมีประสิทธิภาพการต้านเชื้อได้มากกว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ขณะที่กลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวไม่พบเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณโซนของการยับยั้งเลยและผลการศึกษาจากการประเมินค่าความขุ่นของการดูดกลืนแสงพบว่ากลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียว พบค่าดูดกลืนแสงมากที่สุด แสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อมากที่สุดหลังใส่ยา สรุปได้ว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อน้อยที่สุด ขณะที่คลอเฮกซิดีนทุกกลุ่มมีประสิทธิภาพการต้านเชื้อที่ดีและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จะเห็นได้ว่าการทดสอบทั้ง 2 วิธี พบว่าคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส นอกจากนี้ Gomes และคณะ[59]ทำการศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลชีพเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีทดสอบการแพร่บนวุ้นเช่นเดียวกัน พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อมากกว่ากลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกับเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และกลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำเกลือตามลำดับ อย่างไรก็ตามด้วยคุณสมบัติของคลอเฮกซิดีนที่สามารถยึดติดกับเนื้อฟันและมีการคงอยู่ได้นาน ทำให้การทดสอบในคลองรากฟันสามารถจำลองสถานการณ์ให้เหมือนกับสถานการณ์ทางคลินิกได้มากกว่า

การนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ (Colony Forming Unit)

วิธีการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงเชื้อคือการนับจำนวนของเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ในหน่วยของ CFU/mL โดยเชื้อที่ยังมีชีวิต (viable cell) เจริญเติบโตและเกิดเป็นโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อทำการบ่มในเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม (ภาพประกอบ 7) เป็นวิธีวัดความมี

ชีวิตของเซลล์ที่ให้ผลแม่นยำโดยการวัดความสามารถเจริญของเซลล์โดยตรง จากหลายการศึกษา [9, 13, 15-18, 20, 49, 57, 58] ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลชีพเมื่อทดสอบจากคลองรากฟันมนุษย์ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเพาะเชื้อลงในคลองรากฟันและประเมินจำนวนของเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ด้วยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากใส่ยา พบว่าผลการทดสอบมีความแม่นยำและสามารถจำลองสถานการณ์ในคลินิกได้

ภาพประกอบ 7 จำนวนโคโลนีของเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

คำนวณกลุ่มตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม G*power เวอร์ชั่น 3.1.9.2 โดยใช้ขนาดอิทธิพล (effect size) จากงานวิจัยก่อนหน้าที่คล้ายคลึงกันของ Delgado[9] ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ใช้ตัวอย่างฟันทั้งหมดจำนวน 60 ซี่ แบ่งกลุ่มทดลองเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 15 ซี่ และกลุ่มควบคุมลบ 15 ซี่

วัสดุและสารเคมีที่ใช้

1. อุปกรณ์

1.1 บีกเกอร์ ขนาด 150 และ 250 มิลลิลิตร

1.2 แท่งแก้วคน (stirring rod)

1.3 จานเพาะเชื้อ (petri dish)

1.4 หลอดทดลองและจุกยาง

1.5 ขวดปริมาตร (flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

1.6 คีมคีบ (forceps)

1.7 ตะแกรงหลอดทดลอง (stainless test tube rack)

1.8 ปิเปตแก้วปริมาตรขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร

1.9 ปรอทแก้ววัดอุณหภูมิ

1.10 หลอดทดลองพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.11 หลอดเข็มฉีดยาและเข็มฉีดยาเบอร์ 25G และ 27G

1.12 แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (spreader glass)

1.13 ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop)

1.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์

1.15 เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล ความละเอียด 0.0001 กรัม

1.16 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer, SHIMADZU, Japan) รุ่น UV-1700

1.17 เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer)

1.18 หัวกรอพีโซดริล (peeso drill)

1.19 แท่งกระดาษซับคลองรากฟัน (paper point)

1.20 เครื่องวัดความเป็นกรดและด่าง รุ่น ST3100 F (OHAUS, USA)

1.21 ขี้ผึ้งสีชมพูสำหรับงานแลปทันตกรรม (dental pink wax)

1.22 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer, PMC, United States)

1.23 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)

2. สารเคมี

2.1 ผงนาโทรซอลหรือ ไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส จากบริษัทเคมีภัณฑ์ จำกัด ประเทศไทย

2.2 สารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากบริษัท อาร์ คอสเมติกส์ แอนด์ ฟู้ด อินกรีเดียนส์ จำกัด ประเทศไทย

2.3 คลอเฮกซิดีนเจลคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 (Consepsis V, Ultradent products Inc, South Jordan, UT)

2.4 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส (UltraCal^{TM}XS, Ultradent products Inc, South Jordan, UT)

2.5 วัสดุบูรณะชั่วคราวเคาวิตอน (Caviton, GC, Accord Henry Schein, Tokyo, Japan)

2.6 น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (sterile distilled water)

2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลว (brain heart infusion broth)

2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น (brain heart infusion agar)

2.9 สารละลายพีบีเอส (PBS solution) ปราศจากเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในการวิจัย

อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลว (brain heart infusion broth)

1. ชั่งผงอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 7.4 กรัม ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล ความละเอียด 0.0001กรัม ใส่ลงในขวดปริมาตรรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 200 มิลลิลิตรในขวดปริมาตรรูปชมพู่ที่มีผงอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วคนผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

3. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดและด่าง โดยค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อควรอยู่ในช่วงพีเอช 7.4 ± 0.2 หากค่าที่วัดได้ไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนด ทำการปรับ

ค่าความเป็นกรดด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

4. แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเสร็จแล้วลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

5. ทำให้ปราศจากเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

6. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลง นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส

อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น (brain heart infusion agar)

1. ชั่งผงอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 52 กรัม ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล ความละเอียด 0.0001 กรัม ใส่ลงในขวดปริมาตรรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1000 มิลลิลิตรในขวดปริมาตรรูปชมพู่ที่มีผงอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วคนผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันร่วมกับเครื่องคนสารละลายแม่เหล็ก

3. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดและด่าง โดยค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อควรอยู่ในช่วงพีเอช 7.4 ± 0.2 หากค่าที่วัดได้ไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนด ทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

4. ทำให้ปราศจากเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

5. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลงที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ 20 มิลลิลิตรถ่ายลงสู่จานเพาะเชื้อ โดยให้วุ้นมีความหนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร

6. รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส

การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

การเลือกฟันและการเตรียมฟัน (Selection and preparation of the teeth)

การเตรียมฟันในการศึกษานี้ประยุกต์จากการศึกษาของ Delgado และคณะ[9] และการศึกษาของ Basrani และคณะ[5] คัดเลือกฟันกรามน้อยล่างแท้รากเดี่ยวที่ถูกถอนโดยไม่ระบุที่มาของฟันจำนวน 60 ซี่ ฟันมีการเจริญของรากฟันสมบูรณ์ ไม่มีรอยผุและรอยร้าว ไม่เคยผ่านการรักษาคลองรากฟันมาก่อนและมีคลองรากฟันตรง ถ่ายภาพรังสีเพื่อตรวจสอบลักษณะกายวิภาคของฟันและแบ่งแบบสุ่มเป็นกลุ่มทดลอง 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ซี่ และกลุ่มควบคุมลบ 5 ซี่

ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 รอบ ตัดฟันตั้งฉากกับแนวแกนฟันด้วยแผ่นคาร์โบรันดัมโดยตัดใต้ต่อรอยต่อระหว่างเคลือบฟันและเคลือบรากฟัน (cementoenamel junction) 2-3 มิลลิเมตรและตัดห่างจากปลายรากฟัน 3-5 มิลลิเมตร ให้ได้ความยาวของชิ้นงานตัวอย่าง 8 มิลลิเมตร ขยายคลองรากฟันด้วยหัวกรอพีโซดริล ขนาด 1 ถึง 4 ตามลำดับ ระหว่างการเปลี่ยนเครื่องมือและขณะขยายคลองรากฟัน ล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ล้างครั้งสุดท้ายด้วยสารละลายอีดีทีเอ (EDTA) ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาตร 2 มิลลิลิตรและโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำชิ้นงานใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (eppendorf) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลว (brain heart infusion broth) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ก่อนเข้าสู่กระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเก็บในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการปราศจากเชื้อของชิ้นฟันตัวอย่างและตรวจความบริสุทธิ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น (brain heart infusion agar) จากนั้นซับคลองรากฟันให้แห้งด้วยแท่งกระดาษซับคลองรากฟัน นำชิ้นฟันตัวอย่างจุ่มด้านปลายรากฟันในขี้ผึ้งร้อนสีชมพู โดยให้ชิ้นฟันตัวอย่างจุ่มลงในขี้ผึ้ง 2 มิลลิเมตร รอให้ขี้ผึ้งที่หุ้มรอบปลายรากฟันของชิ้นตัวอย่างเย็นตัวลงและทาเคลือบผิวฟันรอบนอกด้วยยาทาเล็บ จากนั้นจึงนำชิ้นฟันตัวอย่างที่ถูกหุ้มปลายรากด้วยขี้ผึ้งสีชมพูเรียบร้อยแล้วใส่กลับลงในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังภาพประกอบ 8

ภาพประกอบ 8 ชิ้นฟันตัวอย่างที่เตรียมสำหรับทดลอง

การเพาะเลี้ยงเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในคลองรากฟัน (Preparation of *Enterococcus faecalis* and inoculation)

ในการศึกษานี้ทำการทดลองภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet, BSC) เพาะเลี้ยงเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสสายพันธุ์ ATCC 29212 (American Type Culture Collection 29212) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น เก็บในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อไปเลี้ยงในเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวข้ามคืนและปรับความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง (absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ 0.5 McFarland standard ซึ่งมีเชื้อประมาณ $1.5x10^8$ โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร (colony forming units per milliliter, CFU/ml) จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใส่ในคลองรากฟัน โดยชิ้นงาน 1 ชิ้นอยู่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร) 1 หลอด จากนั้นเก็บในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บไว้นาน 21 วันเพื่อให้เชื้อเจริญเข้าสู่คลองรากฟันและท่อเนื้อฟัน ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 3 วันปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการขาดแคลนอาหารของเชื้อ

การเตรียมยาใส่ในคลองรากฟัน (Preparation of intracanal medication)

ในการศึกษานี้มีการใส่ยาในคลองรากฟันทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส (Ultracal™ XS) โดยมีเพียงเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่ต้องเตรียม โดยใช้สูตรของศิริลักษณ์[21]ที่พัฒนาและปรับปรุงมาจากการศึกษาของ Bem และคณะ[50] ดังนี้

1. ชั่งผงนาโทรซอลหนัก 1 กรัม และน้ำกลั่น 99 กรัมด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอลความละเอียด 0.0001 กรัม
2. ใส่น้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร ให้ความร้อนด้วยการใช้ไมโครเวฟและใช้ปรอทแก้ววัดอุณหภูมิวัดจนมีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสก่อนจึงเริ่มนำไปใช้งานในขั้นตอนถัดไป
3. ค่อยๆ เทผงนาโทรซอลลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ทีละน้อย ใช้แท่งแก้วค่อยๆคนสารจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นจึงค่อยๆเติมผงไปเรื่อยๆแล้วคนให้เข้ากันจนครบ 1 กรัม ระหว่างคนพยายามคนให้กระจายตัวทั่วทั้งบีกเกอร์ร่วมกับการใช้เครื่องกวนสารและแท่งแม่เหล็กกวนสาร เมื่อสารขึ้นรูปเป็นเนื้อเจล จะได้เจลที่มีปริมาณรวม 100 กรัม พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. นำเจลที่เตรียมไว้จากข้างต้นมาปริมาณ 90 กรัม เติมสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนัก 10 กรัม เพื่อให้ได้คลอเฮกซิดีนเจลความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก คนสารละลายให้เข้ากันโดยแท่งแก้วและเครื่องกวนสารจนได้ตำรับที่มีลักษณะเป็นเจลใสเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น จากนั้นนำไปบรรจุเก็บในหลอดทดลองพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ

การใส่ยาในคลองรากฟันและประเมินผลการต้านเชื้อ (Intracanal medication and antimicrobial assessment)

ล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายพีบีเอส (PBS, Phosphate buffer saline) ที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตรและซับคลองรากฟันด้วยแท่งกระดาษซับคลองรากฟัน ใส่ยาในคลองรากฟัน โดยใช้กระบอกฉีดและเข็มขนาด 25 ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.50 มิลลิเมตร ทำการสุ่มเพื่อแบ่งกลุ่มของฟันตามยาที่ใช้ในกลุ่มทดลอง กลุ่มละ 5 ซี่และกลุ่มควบคุมลบ 5 ซี่ ดังนี้

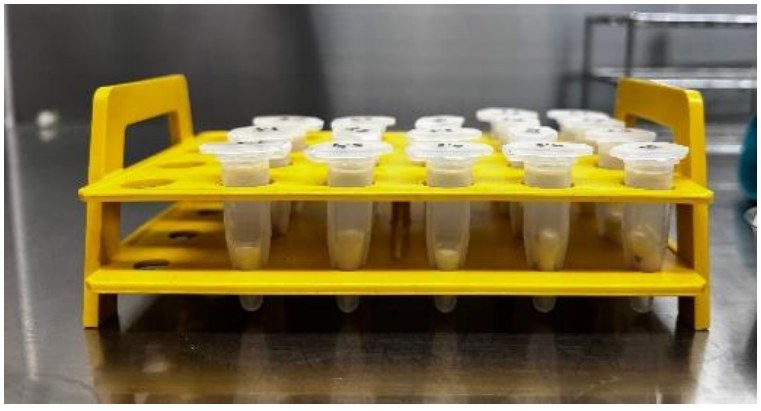
กลุ่มที่ 1 เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่

กลุ่มที่ 2 เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2

กลุ่มที่ 3 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอส

กลุ่มที่ 4 กลุ่มควบคุมลบ ไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน

จากนั้นปิดทางเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในด้วยวัสดุบูรณะชั่วคราวเควิตอน (Caviton, GC, Accord Henry Schein, Tokyo, Japan) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน ดังภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 9 ชิ้นฟันตัวอย่างที่ใส่ยาในคลองรากฟัน

เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด กำจัดวัสดุเควิตอนออก ล้างคลองรากฟันด้วยน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ซับคลองรากฟันด้วยแท่งกระดาษซับคลองรากฟัน จากนั้นใช้หัวกรอพีโซดริลขนาด 5 ใส่ลงในคลองรากฟันและนำเศษเนื้อฟันที่ติดอยู่บริเวณเกลียวของหัวกรอใส่ลงในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเขย่าหลอดด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) เป็นเวลา 1 นาทีและทำการเจือจางสารแบบลำดับขั้น (serial dilution) โดยเจือจางสารแต่ละขั้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร เจือจางทั้งหมด 6 เท่า ทำการเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น บ่มในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เหลืออยู่บนจานอาหารเพาะเชื้อ บันทึกปริมาณของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร ทำการเปรียบเทียบปริมาณของเชื้อที่เหลืออยู่ จากนั้นทำการทดลองซ้ำรอบที่ 2 และรอบที่ 3 ตามขั้นตอนเดิมที่กล่าวไปข้างต้นเพื่อทำการทดลองแยกกัน 3 รอบ

$$\text{จำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{ส่วนกลับลำดับความเจือจางที่ใช้นับ}}{\text{ปริมาณเชื้อที่หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น}}$$

การวิเคราะห์ผล

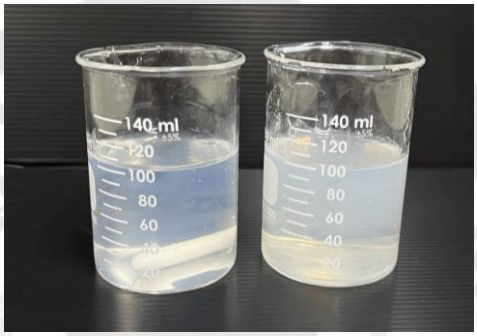
วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS โดยทดสอบความน่าเชื่อถือภายในผู้วัดโดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass Correlation Coefficient, ICC) ก่อนทำการทดลองจริง และทดสอบการกระจายข้อมูลด้วยการทดสอบโคลโมโกรอฟ-สเมอร์นอฟ (Kolmogorov-Smirnov test) พบว่ามีการกระจายตัวไม่ปกติ (Non-normal distribution) ทำการเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตรของแต่ละกลุ่มด้วยการทดสอบครัสคาล-วัลลิส (Kruskal Wallis test) และใช้การทดสอบแมน-วิทนีย์ยู (Mann-Whitney U test) เปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4

ผลการศึกษา

การเตรียมเจลคลอเฮกซิดีน

ใช้สารก่อเจลชนิดไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสหรือนาโทรซอลในการเตรียมคลอเฮกซิดีนเจลความเข้มข้นร้อยละ 2 ผสมกับสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและน้ำกลั่น ได้ตำรับที่มีลักษณะเป็นเจลใส ไม่แยกชั้น ดังภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 ลักษณะของเนื้อเจลเมื่อผสมเสร็จแล้ว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสด้วยวิธีการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ

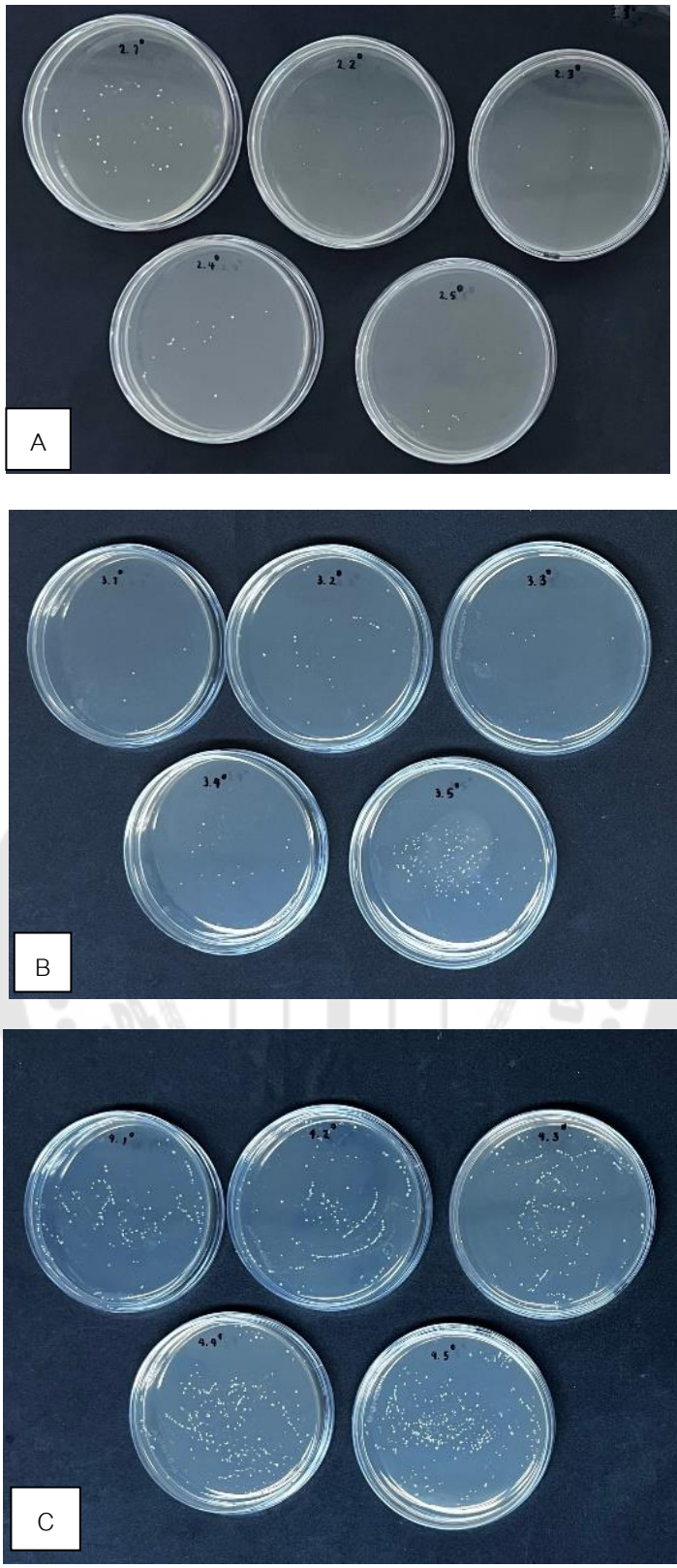
ผลการวัดความน่าเชื่อถือภายในผู้ประเมินพบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้นของการนับปริมาณของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร มีค่า 0.97 แสดงความน่าเชื่อถือของผู้ประเมินอยู่ในระดับดีมาก

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติวิเคราะห์ครัสคาล-วัลลิสเพื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตรในการทดสอบด้วย กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 กลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสและกลุ่มไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน พบว่าแต่ละกลุ่มแตกต่างกันโดยมีอย่างน้อย 2 กลุ่มแตกต่างกัน (P-value=0.000) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P-value<0.05) เมื่อเปรียบเทียบรายคู่ด้วยสถิติทดสอบแมน-วิทนีย์ยูพบว่ากลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่และกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความ

เข้มข้นร้อยละ 2 มีค่าเฉลี่ยปริมาณจำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสน้อยที่สุดและไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value >0.05) ขณะที่ค่าเฉลี่ยปริมาณจำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ยาในคลองรากฟันมีค่ามากที่สุด โดยแตกต่างจากกลุ่มทดลองที่ใส่ยาทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value<0.05) และกลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสพบปริมาณจำนวนเชื้อรองลงมา แตกต่างจากกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่และกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value<0.05) ดังภาพประกอบ 12 และตารางที่ 2 และ 3

ตาราง 2 จำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในหน่วยโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร

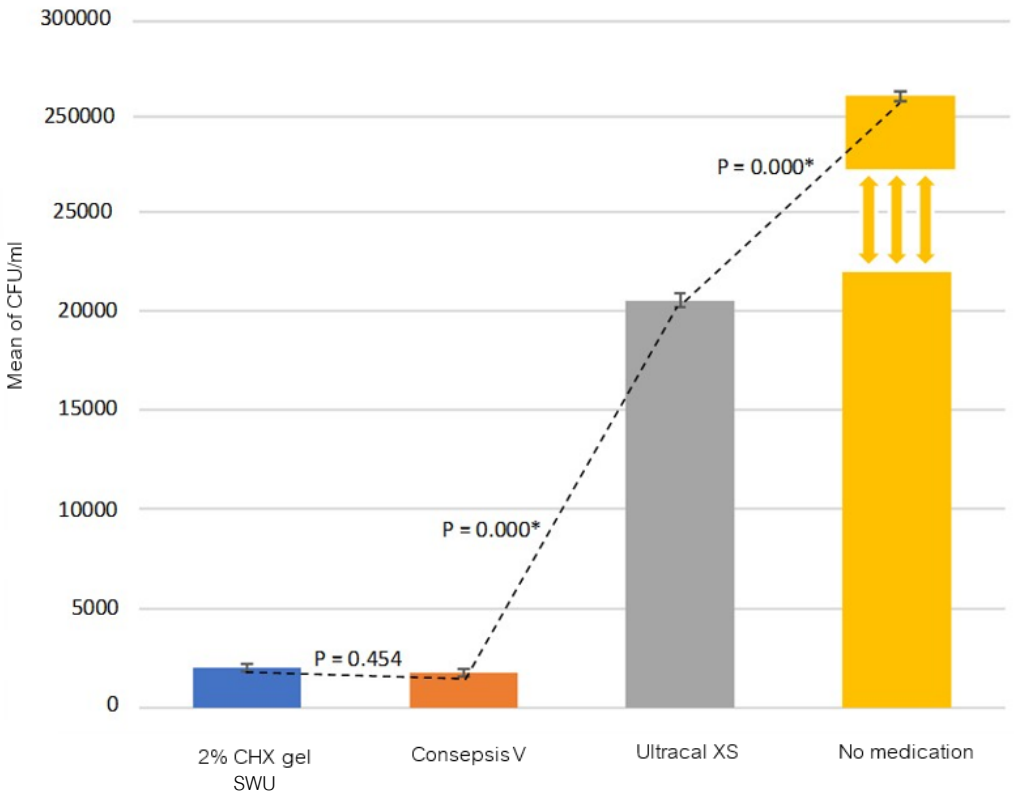
ชนิดของยา	จำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร (CFU/ml)			
	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่ามัธยฐาน	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่	$0.20 \times 10^4 \pm 100$	0.15×10^4	0.13×10^4	0.30×10^4
เจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2	$0.17 \times 10^4 \pm 192.9$	0.16×10^4	0.12×10^4	0.19×10^4
อัลตราแคลเอกซ์เอส	$2.05 \times 10^4 \pm 330.4$	2.28×10^4	1.62×10^4	2.52×10^4
ไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน	$26.05 \times 10^4 \pm 2715.4$	26.10×10^4	25.50×10^4	26.70×10^4



ภาพประกอบ 11 จำนวนเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสจากการเพาะเชื้อบนจานอาหารเพาะเชื้อ (ภาพ A) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่ (ภาพ B) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีและ (ภาพ C) กลุ่มอัลตราแคลเอกซ์เอส

ตาราง 3 การเปรียบเทียบ (P-value) เมื่อใช้สถิติการทดสอบแมน-วิทนีย์ยู

ชนิดของยา	ตารางแสดงการเปรียบเทียบ (P-value)		
	Consepsis V	Ultracal XS	No medication
2% CHX gel	0.454	0.000	0.000
Consepsis V	.	0.000	0.000
Ultracal XS	.	.	0.000
No medication	.	.	.



ภาพประกอบ 12 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนโคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตรของกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ (2% CHX gel SWU) กลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 อัลตราแคลเอกซ์เอสและกลุ่มไม่ใส่ยาในคลองรากฟัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ลักษณะโดยทั่วไปของเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มีความคงสภาพสมบัติทางกายภาพตลอดการใช้งาน ในการศึกษานี้คือมีลักษณะเป็นเจลใส ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของสีและกลิ่น ลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกชั้น มีความหนืดที่เหมาะสม สามารถไหลแผ่ออกมาจากปลายปิเปตที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ได้สะดวก

ภายใต้การจำลองสถานการณ์ในคลองรากฟันเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสด้วยวิธีการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่มีประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสไม่ต่างจากเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีเมื่อทดสอบโดยการใส่ยาเป็นระยะเวลา 7 วัน

การอภิปรายผล

เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเชื้อที่ทนทานต่อสภาวะที่ไม่เอื้ออำนวยในการเจริญเติบโต เช่น ขาดแคลนอาหารและไม่มีออกซิเจนเมื่ออยู่ในท่อเนื้อฟัน ส่งผลให้ยากต่อการกำจัดเชื้อออกจากคลองรากฟัน พบได้บ่อยในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อคงอยู่หลังการรักษาคลองรากฟัน มักสัมพันธ์กับฟันที่มีความล้มเหลวภายหลังการรักษาคลองรากฟัน[27]

ในขั้นตอนการเตรียมฟัน ใช้หัวกรอพีโซดริลขยายคลองรากฟันตั้งแต่ขนาด 1 ถึงขนาด 4 เพื่อให้คลองรากฟันมีขนาดเท่ากันตลอดความยาวของชิ้นฟันที่ทดสอบ เส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 1.30 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่เพียงพอต่อการล้างคลองรากฟันด้วยเข็มล้างขนาด 27 ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.40 มิลลิเมตร และสามารถใช้เข็มขนาด 25 ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.50 มิลลิเมตรในขั้นตอนการใส่ยาในคลองรากฟันได้ จากการศึกษา Chivatxaranukul และคณะ[31] พบว่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสสามารถแทรกตัวเข้าไปอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ลึกถึง 156.2 ไมโครเมตรในคลองรากฟันที่ผ่านการขยายคลองรากฟันมาแล้ว ในการศึกษานี้จึงใช้หัวกรอพีโซดริลขนาด 5 ที่มีขนาด 1.50 มิลลิเมตร ในการกรอเพื่อเก็บเชื้อจากผนังคลองรากฟัน

การศึกษาครั้งนี้ทดสอบผลการต้านของเชื้อเมื่อใส่ยาเป็นระยะเวลา 7 วัน เนื่องจากประสิทธิภาพในการต้านเชื้อของคลอเฮกซิดีนขึ้นอยู่กับการเกาะติดบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

ซึ่งการเกิดปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชั้นเนื้อฟันและคลอเฮกซิดีนใช้เวลา 7 วัน[60] รวมถึงเป็นระยะเวลาทั่วไปที่นัดหมายผู้ป่วยกลับมาเปลี่ยนยาในคลองรากฟันในทางคลินิก อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Gomes และคณะ[10] พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้นาน 15 วันและประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจะหมดไปเมื่อถึงวันที่ 30

Paquette และคณะ[12] พบว่าการใช้สารละลายคลอเฮกซิดีนเป็นยาที่ใส่ในคลองรากฟันทางคลินิกทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียระหว่างการรักษา จึงแนะนำคลอเฮกซิดีนรูปแบบอื่น เช่น รูปแบบเจล หรือรูปแบบที่มีระบบควบคุมการปลอดปล่อยและนำส่งยา (controlled release delivery) สอดคล้องกับ Ferraz และคณะ[13] พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถทำให้เกิดผนังคลองรากฟันที่สะอาดที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 ด้วยการประเมินจำนวนเชื้อแบคทีเรียและเศษเนื้อฟันที่เหลืออยู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของเจลที่มีความหนืดสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำความสะอาดคลองรากฟันโดยเจลจะนำพาเศษเนื้อฟันและเนื้อเยื่อต่างๆ ออกมาด้วย จึงชดเชยความสามารถของคลอเฮกซิดีนที่ไม่สามารถละลายเนื้อเยื่อได้ นอกจากนี้ลักษณะเด่นของคลอเฮกซิดีนคือมีคุณสมบัติการคงอยู่บนพื้นผิวได้นานเนื่องจากสามารถยึดเกาะกับผนังคลองรากฟันและท่อเนื้อฟันได้ดี โดยออกฤทธิ์จับกับผลึกไฮดรอกซิอะพาไทท์ของเนื้อฟัน[40] เมื่อคลอเฮกซิดีนอยู่ในรูปแบบเจลที่มีความหนืดทำให้คลอเฮกซิดีนสัมผัสกับผนังคลองรากฟันและท่อเนื้อฟันได้นานขึ้นส่งผลให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดี

เจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้เลือกใช้ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลสหรือนาโทรซอลเป็นสารก่อเจล เนื่องจากเป็นสารที่ไม่มีประจุ สามารถละลายน้ำได้ดีทั้งในน้ำอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ [61] สอดคล้องกับการศึกษาของ Bem และคณะ[50] เมื่อดูความเป็นเนื้อเดียวกันของเจล (homogeneity of gel) ด้วยการทดสอบวัดค่าดูดกลืนแสงพบว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่ใช้สารก่อเจลไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลสในทุกกลุ่มตัวอย่างให้ค่าดูดกลืนแสงใกล้เคียงกันแสดงให้เห็นว่าเจลมีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความใสของเจลสม่ำเสมอกัน นอกจากนี้เจลคลอเฮกซิดีนยังสามารถฆ่าเชื้อได้โดยไม่ลดประสิทธิภาพในการเป็นยาใส่ในคลองรากฟันเมื่อใช้ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลสเป็นสารก่อเจล[17] สอดคล้องกับการศึกษาของ Silva และคณะ[18] พบว่าการใช้ไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลสเป็นสารก่อเจลไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสลดลงเมื่อนำมาใช้กับคลอเฮกซิดีนและด็อกซีไซคลิน ไฮโดรคลอไรด์ สอดคล้องกับ

การศึกษาครั้งนี้ที่พบว่ากลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่และกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสดีกว่ากลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมสำเร็จรูปอัลตราแคลเอกซ์เอสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่นำมาใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันสามารถละลายเนื้อเยื่อและฆ่าเชื้อจุลชีพโดยการเปลี่ยนสภาพโปรตีนและทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ได้ โดยอาศัยค่าความเป็นด่างของสารคือไฮดรอกซิลไอออน แต่สำหรับเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่มีคุณสมบัติเข้าไปเกาะติดในท่อเนื้อฟันโดยออกฤทธิ์จับกับไฮดรอกซิอะพาไทท์ที่มีคุณสมบัติในการปรับสมดุลค่าบัฟเฟอร์ในท่อเนื้อฟันทำให้ไฮดรอกซิลไอออน ไม่สามารถออกฤทธิ์ต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้อย่างมีประสิทธิภาพ[62] ร่วมกับในสภาวะที่พีเอชเพิ่มขึ้นไปจนถึง 8.5 เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสจะสามารถจับกับคอลลาเจนชนิดที่ 1 บนผนังคลองรากฟันได้มากขึ้น[34] ยิ่งส่งผลให้ยากต่อการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิส สอดคล้องกับการศึกษาของ Siqueira และคณะ[63] ที่พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนมากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ผสมน้ำกลั่นหรือกลีเซอรีน (glycerin) ด้วยวิธีทดสอบการแพร่บนวุ้นและการศึกษาของ Delgado และคณะ[9] พบว่ากลุ่มที่ใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสน้อยกว่ากลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนและกลุ่มเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่มีหรือไม่มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อไม่แตกต่างกัน

จากการศึกษาของศิริลักษณ์[21] ได้พัฒนาเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่พัฒนาขึ้นที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒเพื่อใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่กับเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีและสารละลายคลอเฮกซิดีนโดยวิธีทดสอบการแพร่บนวุ้น วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนการยับยั้งที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนการยับยั้งของยา 3 ชนิดในแต่ละช่วงเวลา พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีมีค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนการยับยั้งไม่แตกต่างกัน โดยเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี ยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่าสารละลายคลอเฮกซิดีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบในวันที่ 14 และ 21 เจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวี มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อไม่แตกต่างกัน ขณะที่สารละลายคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลงในวันที่ 21 เมื่อเทียบกับวันที่ 14 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่เจลคลอเฮกซิดีน

ที่พัฒนาขึ้นใหม่และเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบในคลองรากฟันทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นคุณสมบัติและความสามารถที่ใช้ในการต้านเชื้อไม่แตกต่างกัน เจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากกว่าเจลคลอเฮกซิดีนคอนเซปซิสวีแต่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อเท่ากันคือ 312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 0.0312 สรุปได้ว่าเจลคลอเฮกซิดีนที่พัฒนาขึ้นใหม่ มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสและยามีความคงตัวของประสิทธิภาพในการต้านเชื้อไม่แตกต่างกับเจลคอนเซปซิสวีเมื่อศึกษาเป็นระยะเวลา 21 วัน ดังนั้นการใช้คลอเฮกซิดีนที่ความความเข้มข้นร้อยละ 2 เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อ ทั้งนี้การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการมีปัจจัยหลายอย่างที่ไม่เหมือนสภาวะแวดล้อมจริง ไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลชีพในช่องปากที่มีหลายชนิดและมีการจัดกลุ่มรวมตัวกัน ความซับซ้อนของคลองรากฟันที่อาจทำให้ยาเข้าไปถึงเชื้อจุลชีพได้ยาก รวมถึงเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสสามารถรวมตัวและเจริญเป็นคราบจุลินทรีย์ได้ ทำให้การซึมผ่านของยาที่จะลงไปถึงตัวเชื้อทำได้ยาก จากการศึกษาของ Chanluang และคณะ[64]พบว่าการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เจริญแบบคราบจุลินทรีย์ต้องใช้คลอเฮกซิดีน 3,125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เจริญแบบอิสระใช้คลอเฮกซิดีนในการฆ่าเชื้อเพียง 625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรน้อยกว่า 5 เท่า ดังนั้นการเลือกใช้ความเข้มข้นของคลอเฮกซิดีนจึงมีความสำคัญ การศึกษานี้จึงเลือกใช้เจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อย 2 อ้างอิงจากการศึกษาของศิริลักษณ์[21]และการศึกษาของ Basrani และคณะ[5] ที่พบว่าเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้มากกว่าเจลคลอเฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 อย่างมีนัยสำคัญ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ ซึ่งทำการศึกษาการต้านเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลิสเพียงชนิดเดียว ซึ่งในทางคลินิกสามารถพบเชื้อชนิดอื่นที่หลากหลาย รวมถึงการเกิดแผ่นคราบจุลินทรีย์ร่วมด้วย ในการศึกษาเพิ่มเติมจึงควรคำนึงถึงการทดสอบกับเชื้อที่หลากหลาย การทดสอบทางคลินิก ระยะเวลาที่ใส่ยาในคลองรากฟัน รวมถึงการทดสอบความคงสภาพของตัวยา สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ความใส ความหนืดของเจลที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสมต่อการใช้งานในคลินิกต่อไป

บรรณานุกรม

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. 1965;20(3):340-9.

2. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998;85(1):86-93.

3. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981;89(4):321-8.

4. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J. 2007;52:S64-82.

5. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;96(5):618-24.

6. Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. Aust Endod J. 2005;31(2):48-52.

7. Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine, 2% metronidazole, bioactive glass when compared with calcium hydroxide as intracanal medicaments. J Endod. 2007;33(12):1473-6.

8. Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2005;31(1):53-6.

9. Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RB, et al. Antimicrobial effects of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2010;36(8):1389-93.

10. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2003;36(4):267-75.

11. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in

endodontics. Int Endod J. 2009;42(4):288-302.

12. Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. J Endod. 2007;33(7):788-95.

13. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. J Endod. 2001;27(7):452-5.

14. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. Braz Dent J. 2007;18(4):294-8.

15. Bhardwaj A, Ballal S, Velmurugan N. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of Morinda citrifolia, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. J Conserv Dent. 2012;15(3):293-7.

16. Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99(6):768-72.

17. Mathew R, Sukumaran AS, Singh P, Varughese AV. Evaluation of the efficacy of different intracanal medicaments against *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* - An In-Vitro study. Indian J Dent Res. 2022;33(4):440-4.

18. Silva AR, Pinto SC, Santos EB, Santos FA, Farago PV, Gomes JC, et al. New intracanal formulations containing doxycycline or chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*. J Contemp Dent Pract. 2014;15(1):61-5.

19. de Souza-Filho FJ, Soares Ade J, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. Braz Dent J. 2008;19(1):28-33.

20. Sharifian MR, Shokouhinejad N, Aligholi M, Emaneini M, Katebi A, Assadian H. In vitro comparison of the effectiveness of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations on *Enterococcus faecalis*. Iran Endod J. 2008;3(3):50-6.

21. ศิริลักษณ์ คำประพันธ์. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัสฟีคัลลิสของเจลคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ2 ที่พัฒนาขึ้นใหม่ 2567.

22. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J. 1992;25(2):97-106.

23. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002;35(3):221-8.

24. Kahler SL, Shetty S, Andreasen FM, Kahler B. The Effect of Long-term Dressing with Calcium Hydroxide on the Fracture Susceptibility of Teeth. J Endod. 2018;44(3):464-9.

25. Blanscet ML, Tordik PA, Goodell GG. An agar diffusion comparison of the antimicrobial effect of calcium hydroxide at five different concentrations with three different vehicles. J Endod. 2008;34(10):1246-8.

26. Rôças IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004;30(5):315-20.

27. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol. 2004;19(2):71-6.

28. 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. J Endod. 2007;33(10):1145-8.

29. Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiol Immunol. 2003;18(2):121-6.

30. Love RM. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34(5):399-405.

31. Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2008;41(10):873-82.

32. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. Eur J Oral Sci. 2004;112(3):207-15.

33. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. Int Endod J. 2005;38(10):735-42.

34. Kayaoglu G, Erten H, Ørstavik D. Growth at high pH increases *Enterococcus faecalis* adhesion to collagen. Int Endod J. 2005;38(6):389-96.

35. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. J Endod. 2002;28(10):689-93.

36. 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. J Endod. 2014;40(4):509-14.

37. Waters CM, Antiporta MH, Murray BE, Dunny GM. Role of the *Enterococcus faecalis* GelE protease in determination of cellular chain length, supernatant pheromone levels, and degradation of fibrin and misfolded surface proteins. J Bacteriol. 2003;185(12):3613-23.

38. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. J Periodontol. 1986;57(6):370-7.

39. Thakur V, Kaur D, Jamwal P. 2% Chlorhexidine in root canal treatment: A review. Journal of Current Medical Research and Opinion. 2020;3.

40. Nordbö H. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and tooth surfaces. Scand J Dent Res. 1972;80(6):465-73.

41. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. Aust Endod J. 2006;32(3):112-5.

42. Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;98(4):488-92.

43. Löe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J Periodontal Res. 1970;5(2):79-83.

44. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endod. 1997;23(4):229-31.

45. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, et al.

Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. J Endod. 2000;26(11):652-5.

46. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;97(1):79-84.

47. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2001;34(6):424-8.

48. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. J Endod. 2003;29(5):338-9.

49. Ercan E, Dalli M, Dülgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102(2):e27-31.

50. Bem SH, Estrela C, Guedes DF, Sousa-Neto MD, Pécora JD. Determination of chemical components derived from 2% chlorhexidine gel degradation using gas chromatography-mass spectrometry. Acta Odontol Scand. 2014;72(8):630-8.

51. Liu L, Wu D, Tu H, Cao M, Li M, Peng L, et al. Applications of Hydrogels in Drug Delivery for Oral and Maxillofacial Diseases. Gels. 2023;9(2).

52. Labarre DJP, Ponchel G, Vauthier C. Biomedical and Pharmaceutical Polymers: Pharmaceutical Press; 2011.

53. Rathod H, Mehta D. A Review on Pharmaceutical Gel. International Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015;1:33-47.

54. Lieberman HA, Rieger MM, Banker GS. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems: M. Dekker; 1996.

55. Fini A, Bergamante V, Ceschel GC. Mucoadhesive gels designed for the controlled release of chlorhexidine in the oral cavity. Pharmaceutics. 2011;3(4):665-79.

56. Miyamoto T, Takahashi S, Ito H, Inagaki H, Noishiki Y. Tissue biocompatibility of

cellulose and its derivatives. J Biomed Mater Res. 1989;23(1):125-33.

57. Ooi HY, Tee WY, Davamani F, Nagendrababu V. Comparing the antimicrobial efficacy of pediocin with chlorhexidine and calcium hydroxide as intracanal medicaments against persistent root canal infections. J Conserv Dent. 2019;22(3):241-4.

58. Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FG, Nascimento GG, Carvalho CA, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. J Endod. 2015;41(6):824-30.

59. Gomes BP, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Almeida JF, et al. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. J Dent. 2009;37(1):76-81.

60. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. J Endod. 2000;26(6):315-7.

61. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipients. 6 ed: London : Pharmaceutical Press ; Washington, DC : American Pharmaceutical Association; 2009.

62. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. J Endod. 1996;22(12):674-6.

63. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod. 1997;23(3):167-9.

64. Chanluang S, Arlai S, Srilakorn W, Pengkumsri N. Antimicrobial Activity of Alpinia conchigera Extract on *Enterococcus faecalis* Biofilm. Thai Pham Health Sci J. 2010;5(4):279-86.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	CHAWAPORN KLONGPITAYAPONG
วัน เดือน ปี เกิด	22 March 1993
สถานที่เกิด	Nonthaburi
วุฒิการศึกษา	Khonkaen university
ที่อยู่ปัจจุบัน	10 Ngamwongwan25 Yaek12 Bangkhen Mueng Nonthaburi 11000