การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ ในโพลอกซาเมอร์ 407 เจล และในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล สำหรับใช้ในคลองรากฟัน

Comparison of Antimicrobial Activity and Substantivity of Silver Compounds in Poloxamer 407 Gel and in Macrogol Mixed with Propylene Glycol as an Intracanal Medicament

นิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

Nipapen Kanput

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Oral Health Sciences
Prince of Songkla University

2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ ในโพลอกซาเมอร์ 407 เจล และในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล สำหรับใช้ในคลองรากฟัน

Comparison of Antimicrobial Activity and Substantivity of Silver Compounds in Poloxamer 407 Gel and in Macrogol Mixed with Propylene Glycol as an Intracanal Medicament

นิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

Nipapen Kanput

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Oral Health Sciences
Prince of Songkla University

2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 เจล และในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลสำหรับใช้ในคลองรากฟัน
ผู้เขียน	นางสาวนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกวลินธรรมสิทธิ์บูรณ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……
(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

คณะกรรมการสอบ

……..ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.สนอง เอกสิทธิ์)

…..…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์พิวัฒน์)

…..…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกวลินธรรมสิทธิ์บูรณ์)

.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงค์ศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ.....
(นางสาวนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาวนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 เจล และในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลสำหรับใช้ในคลองรากฟัน

ผู้เขียน นางสาวนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

ความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันเกิดจากหลายปัจจัย โดยปัจจัยที่พบว่าทำให้ความสำเร็จของการรักษาลดลงได้แก่ ฟันที่มีการติดเชื้อยืดเยื้อคุณภาพของวัสดุอุดคลองรากฟันไม่เหมาะสม การมีภาวะแทรกซ้อนระหว่างการรักษา และสภาพของการอุดที่ส่วนตัวฟันไม่ดี นอกจากนั้นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อความล้มเหลวคือเชื้อ โดยเชื้อที่พบมากในกรณีของฟันที่ผ่านการรักษาคลองรากฟันมาแล้วล้มเหลวคือ เอ็นเทอโรคอคคัสฟีคาลิส *(Enterococcus faecalis, E. faecalis)* และเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans, C. albicans*) ดังนั้นในขั้นตอนของการรักษาคลองรากฟันจึงต้องมีการใส่สารในคลองรากฟันเพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อระหว่างการรักษาโดยสารที่นิยมใช้ใส่ในคลองรากฟันคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calciumhydroxide) เนื่องจากมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพได้หลายชนิด แต่จากการศึกษาพบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ได้ดังนั้นจึงได้มีการนำสารคลอร์เฮ็กซิดีน (Chlorhexidine, CHX) มาใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟันเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพแบบกว้าง สามารถคงฤทธิ์ต้านเชื้ออยู่ได้นานภายหลังล้างสารออกไป อีกทั้งมีความเป็นพิษน้อย แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดในการใช้งานเนื่องจากไม่สามารถใช้ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์ (NaOCl) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการล้างคลองรากฟันได้

ปัจจุบันซิลเวอร์ (Silver, Ag) ถูกพัฒนามาใช้ในงานวิทยาศาสตร์หลายๆด้าน ทั้งทางด้านการแพทย์และด้านทันตกรรม เนื่องจากซิลเวอร์มีความเป็นพิษน้อย มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้แบบกว้าง โดยสามารถฆ่าได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ดังนั้นจึงต้องการพัฒนาซิลเวอร์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าวมาเป็นสารใส่ในคลองรากฟันเพื่อลดข้อจำกัดของการใช้คลอร์เฮ็กซิดีน แต่การที่จะนำซิลเวอร์มาใช้งานในคลองรากฟันดังกล่าวจำเป็นต้องอาศัยตัวนำส่งสารซึ่งพบว่าตัวนำส่งสาร MP (polyethylene glycol or macrogol + propylene glycol) และ P407 (poloxamer 407) มีคุณสมบัติ

ตามที่ต้องการสำหรับนำสารใส่ในคลองรากฟัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อของสารประกอบซิลเวอร์ชนิดต่างๆ ได้แก่*ซิลเวอร์คอมเพล็กซ์* (silver complex), *ซิลเวอร์ออกไซด์* (silver oxide; Ag_2O) และ*ซิลเวอร์*ไนเตรต (silver nitrate; $AgNO_3$) ซึ่งผสมกับตัวนำส่งสารสองชนิดคือ โพลอกซาเมอร์ 407 และมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลต่อเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ในสภาวะเจริญอยู่แบบเดี่ยว (planktonic) เปรียบเทียบกับ 2% คลอร์เฮ็กซิดีนเจล (ยี่ห้อConsepsis®V) ด้วยวิธี Agar well diffusion method

จากนั้นจึงเลือกสารประกอบซิลเวอร์ที่ผสมกับตัวนำส่งสารแล้วให้ผลในการต้านเชื้อจุลชีพได้ดีที่สุดมาทำการศึกษาต่อ โดยทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและประสิทธิภาพในการคงฤทธิ์ของสารต่อเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* เมื่อใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟันในแบบจำลองฟันมนุษย์ ผลการศึกษา agar well diffusion method พบว่าสารประกอบ $AgNO_3$ เมื่อผสมตัวนำส่งสารมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans* ในสภาวะเจริญอยู่แบบเดี่ยวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ Ag_2O และsilver complex ตามลำดับ โดยสังเกตได้จากโซนยับยั้งของสารที่มากกว่ากลุ่มอื่น ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อในแบบจำลองฟันที่เชื้ออยู่ในสภาวะแผ่นชีวภาพ (biofilm) พบว่ากลุ่มทดสอบ MP+$AgNO_3$ มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E. faecalis* ได้ดีกว่ากลุ่มทดสอบ P407+$AgNO_3$, MP, P407 และ control ตามลำดับ แต่ยังด้อยกว่า Consepsis®V ส่วนประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C. albicans* พบว่ากลุ่มทดสอบ MP+$AgNO_3$ มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้ดีเทียบเท่า Consepsis®V และสามารถต้านเชื้อได้ดีกว่า P407+$AgNO_3$, MP, P407 และ control ตามลำดับ ส่วนการศึกษาการคงฤทธิ์ของสาร พบว่าสารประกอบ $AgNO_3$ ผสมกับตัวนำส่งสารที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่พบการคงฤทธิ์ของสารตั้งแต่วันที่สองของการศึกษา

ดังนั้นผลจากการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพในแบบจำลองฟันมนุษย์แสดงให้เห็นว่าสารประกอบ $AgNO_3$ ผสมกับตัวนำส่งสาร MP สามารถนำมาพิจารณาใช้เป็นทางเลือกในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันมนุษย์ได้แต่ต้องทำการศึกษาในสภาวะเลียนแบบในช่องปากก่อนการนำมาใช้จริงในทางคลินิก

Thesis Title	Comparison of Antimicrobial Activity and Substantivity of Silver Compounds in Poloxamer 407 Gel and in Macrogol Mixed with Propylene Glycol as an Intracanal Medicament
Author	Miss Nipapen Kanput
Major Program	Oral Health Sciences
Academic Year	2018

ABSTRACT

The failure of root canal treatment caused by many factors for example, tooth with persistent infection, improper quality of root canal filling material, complication occurred between root canal treatment or improper coronal restoration. Moreover, another factor that affects the failure is microorganisms. Most common microorganisms in case of failed endodontic treatment are *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) and *Candida albicans* (*C. albicans*). So during a root canal procedure, the tooth need medicament in order to inhibit growth and eliminate the amount of microbes during treatment.

Calcium hydroxide $Ca(OH)_2$ is the most common medicament has been used in endodontics because of wide range of antimicrobial activity but from previous study found that $Ca(OH)_2$ less effective against *E. faecalis* and *C. albicans*. Thus, chlohexidine has started to be used as an intracanal medicament due to board spectrum antimicrobial effect, substantivity to dentin and low toxicity but chlohexidine has limitation in use because it can interact with sodium hypochlorite that is the most commonly used as irrigant in root canal treatment and will result in the formation of para chloroaniline (PCA) sediment.

Nowadays silver has been used in both medicine and dentistry because of its broad spectrum of antimicrobial properties and low toxicity. From these properties of silver so we want to develop as a medicament in root canal to reduce the limitations of the use of chlohexidine. To use silver as an intracanal medicament is required the vehicle. Therefore this study consider using macrogol or polyethelene glycol mixed with propylene glycol (MP) and poloxamer 407 (P407) because the desired properties for vehicle of intracanal medicament. The objective of this study is to compare antimicrobial activity and substantivity of silver compounds in P407 and in

macrogolmixed with propylene glycol as an intracanal medicament. This study examine antimicrobial activity of *E. faecalis* and *C. albicans* in planktonic condition among silver complex, silver oxide (Ag_2O) and silver nitrate ($AgNO_3$) in P407 and in macrogol mixed with propylene glycol compared with 2% chlohexidine gel (Consepsis® V) with agar well diffusion method and select silver compound that the most antimicrobial activity effect when mixed with vehicles for the further study in antimicrobial activity and substantivity in tooth model.

Result from agar well diffusion method found that $AgNO_3$ is the most antimicrobial activity effect in both *E. faecalis* and *C. albicans* in planktonic condition follow by Ag_2O and Ag-complex respectively.

The result antimicrobial activity in tooth model found MP+$AgNO_3$ is the most antimicrobial activity effect same as Consepsis® V in *C. albicans* but in *E. faecalis* the antimicrobial activity effect less than Consepsis® V.

The result of antimicrobial substantivityfound that $AgNO_3$ in P407 and in macrogol mixed with propylene glycol dose not have substantivity effect in 2 days after study

From antimicrobial activity result suggest that $AgNO_3$in MP can be used as an intracanal medicament in root canal.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ซึ่งกรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงรายงานวิจัยฉบับนี้ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ข้าพเจ้าตระหนักถึงความทุ่มเทของอาจารย์จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่ให้แนวคิด ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ผู้สนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัย หน่วยบัณฑิตศึกษา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผู้ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย ขอขอบพระคุณภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาทุกท่าน ผู้คอยช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสถานที่สำหรับทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ดร. นันทิยา พาหุมันโต สำหรับคำแนะนำ ข้อคิดเห็น และความช่วยเหลือต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยครั้งนี้ อีกทั้งยังได้สละเวลาอันมีค่าในการตรวจและแก้ไขข้อบกพร่องตลอดการทำวิจัย จนงานวิจัยผ่านพ้นมาได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณพี่ๆ น้องๆ เจ้าหน้าที่คลินิกบัณฑิต 1 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่าน ผู้คอยช่วยเหลือ สนับสนุน และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยทุกด้าน

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลหนองสองห้อง ทันตแพทย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายทันตกรรมโรงพยาบาลหนองสองห้อง จ.ขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนการลาศึกษาต่อในครั้งนี้

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจมาตลอดจนการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ประโยชน์และความรู้ที่ได้จากงานวิจัยเล่มนี้ ผู้เขียนขอมอบแด่ทุกๆท่านที่เกี่ยวข้อง

นิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการรูปภาพ	(12)
รายการแผนภูมิ	(13)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การทบทวนวรรณกรรม	4
วัตถุประสงค์	15
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	16
3. ผลการวิจัย	26
4. บทวิจารณ์	35
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	48
ประวัติผู้เขียน	64

รายการตาราง

ตารางที่			หน้า
ตารางที่	1.1	ชนิดของ poloxamer	11
ตารางที่	2.1	ความเข้มข้นของสารประกอบซิลเวอร์ในตัวนำส่งสาร โพลอกซาเมอร์407 และตัวนำส่งสารมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล	18
ตารางที่	2.2	แสดงกลุ่มทดสอบ Agar well diffusion method	20
ตารางที่	3.1	โซนยับยั้งของกลุ่มทดสอบต่างๆ	27
ตารางที่	3.2	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ในหน่วย LogCFU/g (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในแต่ละระดับชั้นเนื้อฟันเมื่อ ใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน	28
ตารางที่	3.3	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* ในหน่วย Log CFU/g ในช่วงระยะเวลา 14 วันของแต่ละกลุ่มทดสอบ	33
ตารางที่	3.4	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *C. albicans* ในหน่วย Log CFU/g ในช่วงระยะเวลา 14 วันของแต่ละกลุ่มทดสอบ	33

รายการรูปภาพ

รูปภาพที่		หน้า
รูปที่ 1.1	โครงสร้าง Chlorhexidine	8
รูปที่ 1.2	โครงสร้าง parachloroaniline	9
รูปที่ 1.3	โครงสร้างโพลอกซาเมอร์ 407	11
รูปที่ 1.4	ค่า Gelation temperature ของ Poloxamer 407 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	11
รูปที่ 1.5	สูตรโครงสร้างโพลีเอทิลีน ไกลคอล	12
รูปที่ 1.6	สูตรโครงสร้างโพรพิลีนไกลคอล	13
รูปที่ 2.1	มาโครกอล 400 และ 4000	18
รูปที่ 2.2	มาโครกอลที่ได้จากการผสมโพลีเอทิลีน ไกลคอล 400 และ 4000	19
รูปที่ 2.3	ลักษณะหลุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเติมสารทดสอบ	20
รูปที่ 2.4	กลุ่มตัวอย่างสำหรับทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสาร	22
รูปที่ 2.5	การวางชิ้นฟันลงในจานเพาะเชื้อ	23
รูปที่ 2.6	ผงเนื้อฟันในขวดแก้วที่ผสมกับเชื้อทดสอบ	25
รูปที่ 3.1	โซนยับยั้งที่เกิดขึ้นเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans*	26
รูปที่ 3.2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. Faecalis* เมื่อเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar	29
รูปที่ 3.3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *C. albicans* เมื่อเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA	31

รายการแผนภูมิ

แผนภูมิที่			หน้า
แผนภูมิที่	3.1	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ของแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน แยกตามกลุ่มทดสอบเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน	29
แผนภูมิที่	3.2	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ของแต่ละกลุ่มทดสอบ แยกตามระดับชั้นเนื้อฟันเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน	30
แผนภูมิที่	3.3	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ของแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน แยกตามกลุ่มทดสอบเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน	31
แผนภูมิที่	3.4	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ของแต่ละกลุ่มทดสอบ แยกตามระดับชั้นเนื้อฟันเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน	32
แผนภูมิที่	3.5	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ในช่วงระยะเวลา 14 วัน ของแต่ละกลุ่มทดสอบ	34
แผนภูมิที่	3.6	ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ในช่วงระยะเวลา 14 วัน ของแต่ละกลุ่มทดสอบ	34

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การติดเชื้อภายในระบบคลองรากฟันเป็นสาเหตุหลักของการอักเสบของเนื้อเยื่อใน (dental pulp) และการอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณรอบปลายรากฟัน (periapical tissue) หัวใจสำคัญในการรักษาคลองรากฟันคือ การกำจัดเชื้อและการป้องกันการติดเชื้อภายในระบบคลองรากฟัน (root canal system) โดยการใช้เครื่องมือทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยวิธีกล (mechanical instrumentation) ร่วมกับการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อล้างคลองรากฟัน (irrigation) แต่อย่างไรก็ตามการใช้เครื่องมือขยายร่วมกับการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อล้างคลองรากฟันพบว่ายังคงมีเชื้อหลงเหลืออยู่ภายในคลองรากฟัน อาจเนื่องมาจากระบบคลองรากฟันมีความซับซ้อนและเข้าถึงได้ยาก ซึ่งอาจทำให้เกิดความล้มเหลวภายหลังการรักษาคลองรากฟันได้ ดังนั้นการใช้สารใส่ในคลองรากฟัน (intracanal medication) จึงมีความจำเป็นเพื่อช่วยลดปริมาณเชื้อภายในระบบคลองรากฟันที่หลงเหลืออยู่ หรือในบางกรณีที่การรักษาคลองรากฟันไม่สามารถทำให้เสร็จได้ในครั้งเดียว การใส่สารในคลองรากฟันยังเป็นการช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเชื้อระหว่างการรักษาได้ด้วย

จากอดีตจนถึงปัจจุบันมีการใช้สารหลายชนิดใส่ในคลองรากฟันเช่น สารฟีนอล (phenol), แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide), คลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine) และยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป โดยสารที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันคือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือเป็นผลึกใสไม่มีสี เมื่อทำปฏิกิริยาจะแตกตัวได้แคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไฮดรอกซิลอิออน (OH^-) ทำให้มีคุณสมบัติความเป็นด่างที่ค่อนข้างสูงคือมี pH ประมาณ 12.5-12.8 ซึ่งทำให้แบคทีเรียไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่เนื่องจากหลายการศึกษาพบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัสฟีคาลิส (*Enterococcus faecalis, E. faecalis*) ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในการรักษาคลองรากฟันที่ล้มเหลว (endodontic treatment failure)[1,2] เนื่องจากเชื้อมีคุณสมบัติหลายประการที่ทำให้เชื้ออยู่รอดในคลองรากฟันได้เช่น สามารถคงอยู่ในภาวะที่ขาดอาหารได้เป็นเวลานาน สามารถสร้างแผ่นชีวภาพ (biofilm) ที่ทำให้ต้านต่อยาหรือสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้มากกว่าปกติ อีกทั้งสามารถทนต่อภาวะความเป็นด่างสูง เนื่องจากมีกระบวนการโปรตอนปั๊ม (proton pump) ทำให้

สามารถคงสมดุลของระดับความเป็นกรดและด่างภายในเซลล์ได้[3] เชื้ออีกชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยในกรณีการรักษาคลองรากฟันล้มเหลวคือ *Candida albicans* (*C. albicans*)[4,5] โดยจากการศึกษาพบว่าเชื้อรา *C. albicans* สามารถทนต่อฤทธิ์ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่นิยมใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟันได้[6] นอกจากนั้นการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟันระยะเวลานานยังเป็นการเพิ่มโอกาสของการแตกหักของเนื้อฟันด้วย[7]

ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาเพื่อพัฒนาสารที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาเป็น intracanal medicament ต่อไป

คลอร์เฮ็กซิดีน (chlorhexidine, CHX) เป็นสารกลุ่ม bisbiguanide ที่มีประจุบวก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพได้หลายชนิด (broad spectrum)[8] การศึกษาพบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อที่อยู่ภายในคลองรากฟันได้หลายชนิด[9,10] ทั้งเชื้อ *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis*และ *P. aureginosa*[11] นอกจากนั้นจากการศึกษาความสามารถคงฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ (antimicrobial substantivity) พบว่าภายหลังการล้างสารคลอร์เฮ็กซิดีนออกไป สารจะยังคงมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้ เนื่องมาจากโมเลกุลซึ่งเป็นประจุบวกของคลอร์เฮ็กซิดีนสามารถจับกับเนื้อฟันได้[12] โดยความสามารถในการคงฤทธิ์จะขึ้นกับระยะเวลาที่สารสัมผัสกับเนื้อฟัน[13] จากการศึกษาของ Komorowski และคณะที่ได้ศึกษาในฟันวัว พบว่าการใส่คลอร์เฮ็กซิดีนในคลองรากฟันเป็นระยะเวลา 7 วัน สารจะมีความสามารถในการคงฤทธิ์ได้ตลอดระยะเวลา 21 วัน จึงได้ข้อสรุปให้ใช้คลอร์เฮ็กซิดีนเป็นสารใส่ในคลองรากฟันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 7 วัน[14]

ถึงแม้ว่าคลอร์เฮ็กซิดีนจะมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อทั้งการติดเชื้อในคลองรากฟันแบบทุติยภูมิ (secondary infection) และการติดเชื้อยืดเยื้อ (persistentinfection) ได้ดี แต่ก็ยังมีข้อจำกัดการนำมาใช้งานในคลองรากฟันเนื่องจากไม่สามารถใช้ร่วมกับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์ (sodium hypochlorite, NaOCl) ซึ่งเป็นน้ำยาที่นิยมใช้ในการล้างคลองรากฟันได้ โดยพบว่าจะเกิดปฏิกิริยากันได้เป็นตะกอนสีส้มเรียกว่า parachloroaniline (PCA)[15] ตะกอนดังกล่าวทำให้เกิดการติดสีของเนื้อฟัน[16] ล้างออกยากส่งผลต่อการปิดผนึก (seal) ของวัสดุอุดคลองรากฟัน[17] และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าตะกอนดังกล่าวมีความเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็งด้วย[18] เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดดังกล่าว จึงได้มีการพยายามพัฒนาสารตัวอื่นที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมที่จะนำมาเป็นสารต้านเชื้อในคลองรากฟัน

ปัจจุบันมีสารที่น่าสนใจสำหรับจะนำมาพัฒนาเป็นสารใส่ในคลองรากฟันได้แก่ ซิลเวอร์ (silver) หรืออนุภาคเงิน ซึ่งเป็นโลหะอนุภาคขนาดเล็ก มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบบกว้าง (broad spectrum)มีความเป็นพิษต่ำ และเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อ (Biocompatibility)[19] จึงถูกพัฒนามาใช้ในงานวิทยาศาสตร์หลายๆ ด้าน ทั้งทางด้านการแพทย์และด้านทันตกรรม ในด้านทันตกรรมมี

การนำซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) มาใช้ป้องกันและหยุดยั้งฟันผุทั้งในฟันแท้และฟันน้ำนม[20] การนำสารละลายซิลเวอร์มาใช้สำหรับฆ่าเชื้อในคลองรากฟัน[21] และจากการศึกษาของ Lan WH ยังแนะนำให้ใช้ซิลเวอร์ไนเตรตสำหรับงานรักษาคลองรากฟัน[22] นอกจากนั้นในหลายการศึกษายังได้มีการนำซิลเวอร์ไปผสมรวมในวัสดุทางทันตกรรม พบว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้เป็นอย่างดี

สารใส่ในคลองรากฟัน นอกจากคุณสมบัติในการต้านเชื้อแล้วคุณสมบัติอื่นที่ต้องการคือ ออกฤทธิ์ได้นาน แพร่กระจายเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ นำเข้าสู่คลองรากและล้างออกจากคลองรากฟันได้ง่าย คงสภาพและรักษาระดับความเข้มข้นของสารให้อยู่ในคลองรากฟันตลอดช่วงเวลาการรักษา และไม่รบกวนต่อเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน[23] ดังนั้นการที่จะนำซิลเวอร์มาใช้งานและมีคุณสมบัติตามที่ต้องการของสารใส่ในคลองรากฟัน จึงต้องมีการผสมซิลเวอร์กับตัวนำส่งสาร (vehicle) เพื่อให้สารสามารถนำมาใช้เป็น intracanal medicament ได้

ในปัจจุบันตัวนำส่งสารที่มีการนำมาใช้งานอย่างกว้างขวางทางการแพทย์คือ โพลอกซาเมอร์ 407 (poloxamer 407) ซึ่งเป็นเจลเบสที่มีลักษณะพิเศษคือ เป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำซึ่งจะช่วยให้สามารถนำสารเข้าคลองรากฟันได้ง่าย และเปลี่ยนสถานะเป็นเจลกึ่งแข็งเมื่อมีอุณหภูมิสูง[24] ทำให้สามารถคงสภาพอยู่ในคลองรากฟันได้นานขึ้นและช่วยปลดปล่อยสารออกมาอย่างช้าๆ

ตัวนำส่งสารอีกชนิดหนึ่งที่ปัจจุบันนิยมนำมาใช้ผสมกับยาปฏิชีวนะสำหรับนำยาใส่ในคลองรากฟันคือ โพลีเอทิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol) หรือมาโครกอล (macrogol) ผสมกับโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ชื่อย่อ MP[25,26] เป็นตัวนำส่งสารที่ถูกนำมาใช้ในทางทันตกรรมครั้งแรกโดย Takushige และคณะ[26] โดยผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ให้มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง (ointment) สำหรับนำยาปฏิชีวนะใส่ในฟันน้ำนมเพื่อรักษาการติดเชื้อ[19,27]

จากที่กล่าวมาถึงซิลเวอร์ที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และตัวนำส่งสารทั้งสองชนิดที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับนำสารใส่ในคลองรากฟันจึงนำมาสู่การศึกษาในครั้งนี้ คือการผสมซิลเวอร์กับตัวนำส่งสารทั้งสองชนิดใส่ในคลองรากฟัน โดยมีวัตถุประสงค์การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 กับสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลเมื่อใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟัน

การทบทวนวรรณกรรม

การติดเชื้อในคลองรากฟัน

การติดเชื้อภายในคลองรากฟันมีลักษณะจำเพาะโดยชนิดของแบคทีเรียที่พบภายในคลองรากฟันแตกต่างไปจากภายในช่องปากทั่วไปแบคทีเรียภายในคลองรากฟันสามารถพบได้ทั้งภายในคลองรากฟันหลัก คลองรากฟันแขนง (accessory canal) และภายในท่อเนื้อฟัน (dentinal tubule) ซึ่งมีขนาดเล็กนอกจากนั้นยังพบแบคทีเรียเจริญอยู่บริเวณเคลือบรากฟันด้านนอกของผิวรากฟันอีกด้วย แบคทีเรียภายในคลองรากฟันมีทั้งที่เจริญอยู่แบบเดี่ยว (planktonic) เกาะกลุ่มกันหรือการเจริญอยู่ร่วมกันเป็นลักษณะของแผ่นชีวภาพ

ในการติดเชื้อปฐมภูมิ (primary infection) มักพบจุลชีพชนิดแอนแอโรบส์ (obligate anaerobe) แตกต่างจากการติดเชื้อภายในคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลวภายหลังการรักษาที่มักพบจุลชีพไม่ชอบออกซิเจน (facultative anaerobe) กลุ่มที่พบมากคือเอ็นเทอโรคอคคัสฟีคาลิสและพรีโวเทลลาบัคคี (*Prevotella buccae*) สาเหตุที่ทำให้ปริมาณเชื้อและชนิดของแบคทีเรียภายในคลองรากฟันระหว่างการติดเชื้อชนิดปฐมภูมิกับทุติยภูมิมีความแตกต่างกันนั้นอาจเนื่องจากขั้นตอนการรักษาคลองรากฟันทั้งทางกลและเคมีทำให้ปริมาณจุลชีพลดลงและสภาวะแวดล้อมที่ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพภายหลังการรักษาคลองรากฟันทำให้มีเชื้อเพียงไม่กี่ชนิดที่มีชีวิตรอดอยู่ได้ส่วนความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันนั้นอาจมีสาเหตุจากการคงเหลืออยู่ของเชื้อจุลชีพภายในคลองรากฟัน ทั้งนี้ อาจเกิดจากปัจจัยที่สำคัญหลายประการเช่น ความซับซ้อนของระบบคลองรากฟัน คุณภาพของการฆ่าเชื้อในขั้นตอนต่างๆ ที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอหรือความทนทานของเชื้อในคลองรากฟันซึ่งอาจเกิดจากคุณสมบัติของเชื้อหลายๆ ประการได้แก่ ความสามารถในการดำรงอยู่ในสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโต การสร้างแผ่นชีวภาพโดยไม่ต้องพึ่งพาแบคทีเรียชนิดอื่นและที่สำคัญคือ มีความสามารถในการรุกล้ำแทรกตัวเข้าไปอยู่ในชั้นของท่อเนื้อฟันลึกๆ ซึ่งทำให้การกำจัดเชื้อดังกล่าวด้วยวิธีกลหรือวิธีเคมียากขึ้นตามไปอีกด้วย

การติดเชื้อในคลองรากฟันอาจแบ่งได้เป็น 3 ประเภทจำแนกตามช่วงเวลาที่จุลชีพเข้าสู่คลองรากฟัน ดังนี้

1.การติดเชื้อปฐมภูมิ (primary infection) เป็นการติดเชื้อจุลชีพตั้งแต่ก่อนได้รับการรักษาคลองรากฟัน โดยจุลชีพอาจเป็นสาเหตุทำให้เนื้อเยื่อในตาย หรืออาจเข้าสู่คลองรากฟันภายหลังจากที่เนื้อเยื่อในตายแล้ว มักพบเชื้อกลุ่มแฟคคัลเททีฟ แอนแอโรบส์ (facultative anaerobe) ในระยะแรก ต่อมาเชื้อส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นกลุ่มแอนแอโรบส์ (anaerobe) เชื้อที่มักพบคือกลุ่มแกรมลบ เช่น *Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*,

Campylobacter และ *Veillonella* กลุ่มแกรมบวก เช่น *Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* และ *Eubacterium* ส่วนฟันที่มีการติดเชื้อทำให้มีการตายของเนื้อเยื่อในร่วมกับมีรอยโรครอบปลายรากฟันและมีอาการปวด มักจะพบเชื้อ *Bacteroidesmelaninogenicus* และอาจพบ *Peptostreptococcusanaerobius*, *Campylobacter sputorum*, *Peptostreptococcus micros* และ *Eubacterium* ได้

2.การติดเชื้อทุติยภูมิ (secondary infection) เป็นการติดเชื้อภายหลังจากเริ่มรักษาคลองรากฟันไปแล้ว โดยจุลชีพอาจเข้าสู่คลองรากฟันขณะรักษา ระหว่างการนัดแต่ละครั้ง หรือภายหลังการอุดคลองรากฟันไปแล้ว เช่น การมีเชื้อหลงเหลืออยู่ในรอยผุ แผ่นยางกันน้ำลายรั่ว การใช้เครื่องมือหรือน้ำยาที่ปนเปื้อน วัสดุอุดแตกหรือรั่ว เกิดฟันผุซ้ำหรือฟันแตกหัก

3.การติดเชื้อยืดเยื้อ (persistent infection) เป็นการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับจุลชีพซึ่งมีความทนทานต่อกระบวนการกำจัดเชื้อที่ใช้สำหรับการรักษาคลองรากฟัน จุลชีพดังกล่าวอาจเข้าสู่คลองรากฟันแบบปฐมภูมิ หรือทุติยภูมิก็ได้ ในทางปฏิบัตินั้นการติดเชื้อทุติยภูมิและการติดเชื้อยืดเยื้อมักจะแยกกันไม่ออก และเป็นสาเหตุของการติดเชื้อเรื้อรัง ซึ่งมักทำให้การรักษาคลองรากฟันล้มเหลว

การรักษาคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลว มีสาเหตุจากทั้งการติดเชื้อทุติยภูมิและการติดเชื้อยืดเยื้อมักจะประกอบด้วยเชื้อเพียงไม่กี่ชนิด ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ชนิดแฟคคัลเททีฟ แอนแอโรบส์ ซึ่ง *Enterococcus faecalis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดในกรณีการรักษาคลองรากฟันล้มเหลวนอกจากนี้บางกรณีอาจพบเชื้อราได้บ้าง โดยเชื้อราที่มักพบในกรณีที่รักษาคลองรากฟันล้มเหลวคือ *Candida albicans*

Enterococcus faecalis

Enterococcus species เป็นเชื้อกลุ่มแฟคคัลเททีฟ แอนแอโรบส์ (facultative anaerobes) แกรมบวก รูปร่างกลม หรือรี ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน ในภาวะที่มีออกซิเจนการเจริญเติบโตจะเป็นแบบออกซิเดชัน (oxidation) ส่วนในภาวะที่ขาดออกซิเจนก็สามารถเจริญเติบโตแบบเฟอร์เมนเทชัน (fermentation) พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (ดิน น้ำ อาหาร) และในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ซึ่งสปีชี่ส์หลักๆ ที่พบคือ *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) และ *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) นอกจากนี้ยังสามารถพบในระบบสืบพันธุ์ของเพศหญิงได้ด้วย[28]

E. faecalis เป็นเชื้อที่มักพบในกรณีของการติดเชื้อยืดเยื้อ[1,29] โดยมีสมมุติฐานที่น่าเป็นไปได้คือ[30]

1. *E. faecalis* เป็น primary colonizer ในฟันที่ติดเชื้อในคลองรากฟัน และเนื่องจากเป็นเชื้อที่สามารถทนต่อสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อที่ใช้ในระหว่างการรักษาและสามารถคงมีชีวิตอยู่ได้ในภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ภาวะเป็นด่างสูง (extrerme alkaline) และ salt concentration ทำให้เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้แม้ได้รับการรักษาคลองรากฟันไปแล้ว

2. *E. faecalis* เป็นเชื้อฉวยโอกาส ที่เข้ามาในคลองรากฟันภายหลังการรักษาคลองรากฟันแล้ว (opportunistic canal invaders) เนื่องจากมีหลายการศึกษาที่พบว่าการติดเชื้อในคลองรากฟันปฐมภูมิมีปริมาณ *E. faecalis* ที่ต่ำและแทบไม่พบในรอยโรคฟันผุ นอกจากนี้ในการศึกษาที่ทำการเก็บน้ำลายมนุษย์มาทดสอบ พบว่า 21.8% ตรวจพบ *E. faecalis* และไม่พบเลยในผู้ที่มีสุขภาพช่องปากที่ดี ซึ่งแสดงถึงว่า *E. faecalis* ไม่ได้เป็นเชื้อประจำถิ่นที่ปรากฏอยู่ตลอดเวลาในช่องปาก ปัจจุบันยังไม่ทราบถึงกระบวนการที่เชื้อชนิดนี้ทำให้รอยโรคปลายรากฟันไม่หายอย่างชัดเจนแต่พบว่า *E. faecalis* สามารถคงอยู่ในภาวะที่ขาดอาหาร (starvation) ได้เป็นเวลานาน โดยสามารถคงอยู่ในภาวะที่ขาดอาหาร (glucose-limited และ phosphate-limited media) ได้นานกว่า 4 เดือน และหากมีซีรัมที่มาจาก alveolar bone และเอ็นยึดปริทันต์ แม้เพียง 1% ก็สามารถเจริญเติบโตได้ จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้มีรอยโรครอบปลายรากฟันแม้ทำการรักษาคลองรากฟันไปแล้ว[31] นอกจากนั้นเชื้อชนิดนี้ยังสามารถเข้าไปในท่อเนื้อฟัน[6,32,33] และสามารถยึดเกาะกับคอลลาเจนชนิดที่ 1 (type I collagen) ในเนื้อฟัน โดยการผลิต serine protease, gelatinase และ collagen-binding protein อีกทั้งซีรัมจากเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน ยังช่วยส่งเสริมให้เกิดการยึดเกาะกับ unmineralized collagen ในขณะที่ซีรัมจะยับยั้งการยึดเกาะของ *S. gordonii*,*S. mutans*[29] นอกจากนั้นเชื้อ *E. faecalis* ยังสามารถสร้างแผ่นชีวภาพ ที่ทำให้สามารถต้านต่อการ phagocytosis ของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์ ยาหรือสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ ได้มากกว่าปกติถึง 1,000 เท่า โดย *E. faecalis* ในคลองรากฟันสามารถสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ในระยะเวลาเพียง 2 วันแม้ว่าจะมีการใส่สารต้านเชื้อ (intracanal medication) หรือไม่ก็ตาม และเมื่อเวลาผ่านไป 86 วัน ก็ยังคงสามารถมีชีวิตอยู่ได้[3] อีกทั้งแม้อยู่ในภาวะความเป็นด่างสูง *E. faecalis* ก็ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เนื่องจากมีกระบวนการโปรตอนปั๊มที่นำโปรตอนเข้าสู่เซลล์ ผ่านทาง cytoplasmic membrane ทำให้สามารถคงสมดุลของระดับความเป็นกรดและด่างภายในเซลล์ได้[34] ดังนั้นการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟันจึงไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการกำจัดเชื้อชนิดนี้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวข้างต้น อาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ *E. faecalis* สามารถอยู่รอดเป็นเชื้อก่อโรคในการรักษาคลองรากฟันที่ล้มเหลวได้

Candida albicans

Candida albicans (*C. albicans*) เป็นเชื้อราที่มีสองรูป (dimorphic fungus) พบได้ในช่องปาก ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์[6] สืบพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ (asexual diploid fungus) จัดอยู่ในตระกูล Cryptococcaceae ใน class Deuteromycetes หรือ Fungi imperfecti ใน Kingdom Myceteae เชื้อรา *C. albicans* สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีอุณหภูมิระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส และมีค่า pH ประมาณ 2-8 โคโลนีของเชื้อมีลักษณะทึบแสง ขุ่น สีขาวครีม (cream-colored colonies) เชื้อรา *C. albicans* สามารถเปลี่ยนแปลงตัวเองได้หลายรูปร่าง ตั้งแต่ ยีสต์ (yeast cell) เซลล์หน่อ (budding yeast cell) สายราเทียม (pseudohyphae) สายราแท้และคลาไมโดสปอร์ (true hyphae และ clamydospores) แต่ละรูปร่างมีลักษณะดังนี้ คือ

- ยีสต์ เป็นเซลเดียว มีลักษณะรูปร่างกลม-รี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 ไมโครเมตร ในภาวะนี้ ยีสต์จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ ซึ่งลักษณะที่พบ จะเป็นเซลล์เล็กๆ ติดกับเซลล์แม่ เรียกว่าเซลล์หน่อ

- สายราเทียม เกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์หน่อ ที่ยืดตัวยาวออกและต่อกันเป็นสายโดยไม่มีผนังกั้น

- สายราแท้ เกิดจากการงอกของ germ tube จากเซลล์ยีสต์ ซึ่งเมื่อ germ tube งอกยาวขึ้นไปเรื่อยๆ จะมีผนังแบ่งกั้นเซลล์เกิดขึ้น โดยปกติสายราจะมีความยาวไม่จำกัด เมื่อสายรายาวมากๆ จะไขว้กันไปมาเรียกว่า กลุ่มสายรา (mycelium)

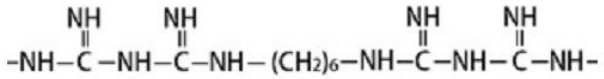
ผนังเซลล์ของยีสต์ เป็นผนังเซลล์ที่ค่อนข้างหนา มีความหนาประมาณ 100-200 นาโนเมตร ประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรต 80-90% ไขมัน 2% และโปรตีน 3-6% โดยน้ำหนัก ผนังเซลล์ของเชื้อรา *C. albicans* มีบทบาทสำคัญในการยึดเกาะ (adhesion) และการตั้งถิ่นฐาน (colonization)

เชื้อรา *C. albicans* มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อในคลองรากฟันทั้งแบบปฐมภูมิ ทุติยภูมิ และการติดเชื้อแบบยืดเยื้อ จากหลายการศึกษา แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *C. albicans* ตรวจพบได้ทั้งในฟันที่ต้องรักษาคลองรากฟันและฟันที่ผ่านการรักษาคลองรากฟันมาแล้วล้มเหลว[4,6,35,36] การศึกษาของ Weckwerth และคณะ[6] ที่ศึกษาผลของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อรา *C. albicans* แสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถทนต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟันได้ รวมทั้งการศึกษาของ Sen และคณะ[37] ซึ่งใช้ SEM ศึกษาฟันที่ต้องได้รับการรักษาคลองรากฟัน พบโคโลนีของเชื้อรา *C. albicans* ทั้งในส่วนผนังคลองรากฟันและพบว่าเชื้อบางส่วนมีความสามารถรุกล้ำเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ด้วย ดังนั้นจากความสามารถในการทนทานของเชื้อต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่

ใช้ใส่ในคลองรากฟันปัจจุบัน รวมถึงความสามารถของเชื้อที่เข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสารสำหรับใส่ในคลองรากฟัน เพื่อผลสำเร็จของการรักษาต่อไป

คลอร์เฮ็กซิดีน (chlorhexidine, CHX)

คลอร์เฮ็กซิดีนเป็นสารกลุ่มบิสไบกัวไนด์ (bisbiguanide) ที่มีประจุบวก มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1.1



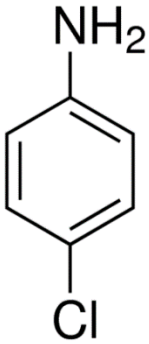
รูปที่ 1.1 โครงสร้าง Chlorhexidine[38]

คลอร์เฮ็กซิดีนมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบบกว้าง มีผลทำลาย phospholipid bilayer ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย โดยที่ความเข้มข้นต่ำจะมีฤทธิ์ยับยั้ง (bacteriostatic effect) เนื่องจากมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และที่ความเข้มข้นสูงจะมีฤทธิ์ bactericidal เนื่องจากมีผลทำให้เกิดการแตกของเซลล์ เกิดการตกตะกอนของโปรตีน และกรดนิวคลิอิก (precipitation of protein and nucleic acid)[39] จากหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าคลอร์เฮ็กซิดีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ*E. faecalis* ได้ดี[32,33,40] จากการศึกษา In vitro ของ Gomes และคณะซึ่งเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อ *E. faecalis* ของสาร NaOCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 2.5, 4.0 และ 5.25 และสารคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 1.0 และ 2.0 ในรูปแบบสารละลายและเจลเบส พบว่าสารทุกชนิดมีความสามารถในการกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ได้[38]

คลอร์เฮ็กซิดีนมีคุณสมบัติคงฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ (antimicrobial substantivity) เนื่องจากโมเลกุลของคลอร์เฮ็กซิดีนที่เป็นประจุบวกสามารถจับกับเนื้อฟันได้ ทำให้ภายหลังจากที่ล้างสารออกไปแล้ว สารยังคงฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้[9] ระยะเวลาของการคงฤทธิ์จะมีความแตกต่างกันไปตามรูปแบบการศึกษา รูปแบบของสาร และระยะเวลาที่สารสัมผัสกับเนื้อฟัน การศึกษาใน in vitro พบว่าการใช้ คลอร์เฮ็กซิดีนเป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันสามารถคงฤทธิ์ได้นาน 72 ชั่วโมง[41] 4 สัปดาห์[42] 12 สัปดาห์[43] ส่วนการศึกษาใน in vivo พบว่าสามารถคงฤทธิ์ได้นาน 48 ชั่วโมง[44] และการศึกษาโดยแช่ฟันวัวในคลอร์เฮ็กซิดีนพบว่าสามารถคงฤทธิ์ต้านจุลชีพได้นาน 21 วัน โดยการศึกษานี้แนะนำว่าควรให้สารสัมผัสกับเนื้อฟันนานอย่างน้อยเป็นเวลา 7 วัน[14]

อย่างไรก็ตามคลอร์เฮ็กซิดีนไม่สามารถใช้ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์ ซึ่งเป็นน้ำยาที่นิยมใช้ในการล้างคลองรากฟันได้ เนื่องจากพบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนสามารถทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์ ได้เป็นสารตกตะกอนสีส้ม เรียกว่า parachloroaniline (PCA) มีโครงสร้าง

ดังรูปที่ 1.2 ซึ่งสารตกตะกอนสีส้มนี้มีผลต่อการติดสีของเนื้อฟัน[16] ล้างออกยากทำให้มีผลต่อการปิดผนึก (seal) ของวัสดุอุดคลองรากฟัน[45] นอกจากนี้ตะกอน PCA ยังมีความเป็นพิษ และเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง[18]



รูปที่ 1.2 โครงสร้าง parachloroaniline

นอกจากคลอร์เฮ็กซิดีนจะทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์แล้ว ยังสามารถทำปฏิกิริยากับ Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) ซึ่งเป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการล้างคลองรากฟัน เกิดเป็นตะกอนเกลือสีขาวตะกอนที่เกิดขึ้นนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นตะกอนชนิดใด และยังไม่ได้มีการศึกษาถึงความเป็นพิษ

ซิลเวอร์ (Silver, Ag)

ซิลเวอร์หรืออนุภาคเงิน เป็นโลหะที่มีอนุภาคขนาดเล็ก ถูกนำมาใช้เป็นสารสำรับฆ่าเชื้อ เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าซิลเวอร์มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบบกว้าง (Broad spectrum) เป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์ต่ำ และสามารถเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อ[19]

ในปัจจุบันซิลเวอร์ได้ถูกพัฒนามาใช้ในงานวิทยาศาสตร์หลายๆ ด้าน ทั้งทางการแพทย์ได้แก่ นำมาเป็นส่วนผสมในน้ำยาหยอดตา ครีมทาแผลไฟไหม้ ผ้าปิดแผล หรือเป็นส่วนผสมของวัสดุทางการแพทย์เพื่อฝังในร่างกายเช่น กระดูก สายสวนปัสสาวะ และอุปกรณ์โรคหัวใจเพื่อช่วยในการต้านเชื้อ[19,46] ซิลเวอร์ถูกเริ่มนำมาใช้ทางทันตกรรมตั้งแต่ปี 1800 เพื่อหวังประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ และเริ่มใช้อย่างแพร่หลายในปี 1900 ก่อนที่จะมีการคิดค้นยาปฏิชีวนะ (antibiotics)[47] ซิลเวอร์ถูกนำมาใช้ในงานทันตกรรมหลายด้าน เช่น ด้านทันตกรรมป้องกัน ได้มีการนำซิลเวอร์มาใช้เพื่อป้องกันและหยุดยั้งฟันผุทั้งในฟันแท้ ฟันน้ำนม และผู้ป่วยที่ฟันผุรุนแรง[20] ด้านทันตกรรมบูรณะ มีการนำซิลเวอร์ผสมในวัสดุอุดฟันเรซินคอมโพสิต พบว่ามีผลทั้งในเรื่องลดการยึดเกาะของเชื้อและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้[48] ด้านทันตกรรมประดิษฐ์มีการนำซิลเวอร์มาเป็นส่วนผสมของฐานฟันปลอม พบว่าทำให้ฐานฟันปลอมมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและ

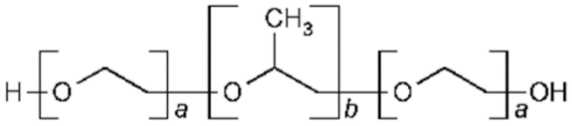
เชื้อราภายในช่องปากเมื่อคนไข้ต้องใช้งานเป็นระยะเวลานาน[49] ในด้านงานรักษาคลองรากฟันได้มีการแนะนำให้ใช้ซิลเวอร์เป็นสารใส่ในคลองรากฟันเพื่อกำจัดเชื้อในคลองราก[21,50] และได้มีการศึกษาโดยนำสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทใส่ค้างในคลองรากฟันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถลดเชื้อภายในคลองรากฟันได้หลายชนิดรวมถึงเชื้อ *E. faecalis* ด้วย[22]

กลไกการออกฤทธิ์ของซิลเวอร์ในการฆ่าเชื้อเกิดจากซิลเวอร์อิออนจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์แบคทีเรียตำแหน่งหมู่ซัลฟีดริล หรือหมู่ไทออล (thiol,-SH) ซึ่งเป็นอะมิโนแอซิดชนิดซิสทีน (cystine) ทำให้โปรตีนผนังเซลล์มีการแปรสภาพ (denature) เกิดความผิดปกติในการควบคุมการขนส่งเข้าออกของสารต่างๆ ส่งผลให้ซิลเวอร์อิออนสามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียได้และเข้าไปจับกับ DNA ที่มีฟอสฟอรัสทำให้เซลล์แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งตัวได้ นอกจากนี้ซิลเวอร์อิออนยังไปจับกับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการหายใจ ทำให้เซลล์แบคทีเรียตายอีกทั้งซิลเวอร์อิออนยังมีฤทธิ์ต่อต้านเอนม์ไซม์ (anti-enzymatic action) โดยจะยับยั้งการทำงานของ proteolytic enzymes เช่น collagenase, trypsin ทำให้ขบวนการทางเคมีต่างๆในเซลล์แบคทีเรียช้าลงเพราะขาดเอนม์ไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาเคมี[51] สุดท้ายคือซิลเวอร์อิออนสามารถจับกับอะมิโนแอซิดชนิดกัวนิน (guanine) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในดีเอ็นเอจึงทำให้แบคทีเรียไม่สามารถถ่ายแบบพันธุกรรมได้

ข้อด้อยของการใช้ซิลเวอร์คือเมื่อสัมผัสกับอากาศซิลเวอร์จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ เปลี่ยนเป็นซิลเวอร์ออกไซด์ (silver oxide) จากนั้นซิลเวอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulphide) ที่อยู่ในช่องปากเกิดเป็นซิลเวอร์ซัลไฟด์ (silver sulphide) และน้ำ ซึ่งซิลเวอร์ซัลไฟด์มีสีดำหรือน้ำตาลเข้มทำให้เกิดการติดสี (black staining)[52]

โพลอกซาเมอร์ 407 (Poloxamer 407, P407)[53]

เป็นสารกลุ่มพอลิเมอร์ มีสีขาว ไม่มีกลิ่นและรส (odorless and tasteless) มีชื่อเรียกได้หลายอย่างเช่น lutrol, monolan, pluronic และ poloxalkol เป็นต้น มีชื่อทางเคมี คือ α-Hydro-ω-hydroxypoly(oxyethylene)poly(oxypropylene)มีหลายชนิด (grade) โดยแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันที่ปริมาณของ polyoxypropylene oxide และ polyoxyethyleneoxides ที่ใส่ในกระบวนการผลิตโพลอกซาเมอร์เป็นสารที่ไม่มีประจุ (nonionic polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymer) ส่วนของ polyoxyethyleneoxides เป็นส่วนที่สามารถละลายน้ำ (hydrophilic) และส่วนของ polyoxypropylene oxide เป็นส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำ (hydrophobic) มีลักษณะของโครงสร้างดังรูปที่ 1.3



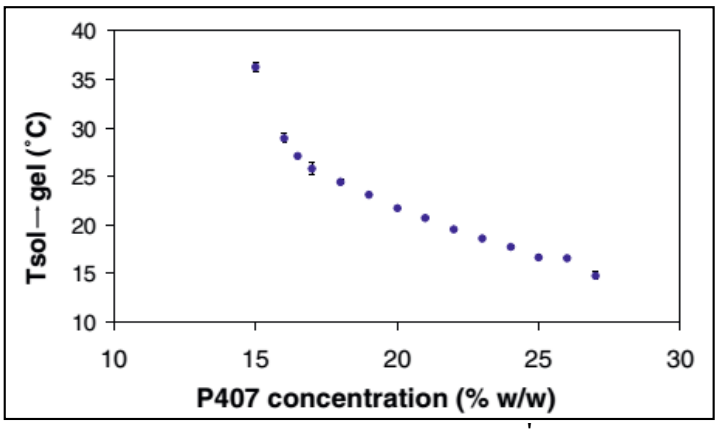
รูปที่ 1.3 โครงสร้างโพลอกซาเมอร์ 407

การเรียกชื่อโพลอกซาเมอร์จะเรียก โพลอกซาเมอร์แล้วตามด้วยตัวเลข 3 ตัว โดย 2 ตัวแรกเมื่อนำมาคูณ 100 จะเป็นน้ำหนักของโมเลกุล Polyoxypropylene โดยประมาณ และตัวเลขตัวสุดท้ายเมื่อนำมาคูณ 10 จะได้น้ำหนักโดยเปอร์เซ็นต์ของ Polyoxyethyleneชนิดและน้ำหนักโพลอกซาเมอร์ แสดงดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ชนิดของ poloxamer[53]

Poloxamer	Physical form	a	b	Average molecular weight
124	Liquid	12	20	2,090-2,360
188	Solid	80	27	7,680-9,510
237	Solid	64	37	6,840-8,830
338	Solid	141	44	12,700-17,400
407	Solid	101	56	9,840-14,600

เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ สารโพลอกซาเมอร์สามารถเปลี่ยนสถานะระหว่างของเหลวและเจลได้ (sol-gel transition) โดยที่อุณหภูมิต่ำจะมีลักษณะเป็นของเหลว และเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นเจล ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงสถานะนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร[24] แสดงในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 ค่า Gelation temperature ของ Poloxamer 407 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

poloxamer ที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ คือ poloxamer 407 (P407) ซึ่งเป็นสารที่นำมาใช้ทางการแพทย์เพื่อเคลือบเม็ดยา และเพื่อเป็นตัวนำยาเข้าสู่ร่างกาย (drug delivery) เช่น poloxamer 407 ความเข้มข้น 0.001-0.85% w/v เพื่อใช้กับดวงตา (ocular delivery system)[54] หรือนำมาผสมกับยาชา lidocaine เพื่อเพิ่มระยะเวลาในการออกฤทธิ์[55] หรือผสมยา ibuprofen ซึ่งเป็นยาแก้ปวดที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบเพื่อใช้รูปแบบยาฉีด ซึ่งพบว่าสามารถผ่านส่วนของเยื่อหุ้มสมองชั้นดูรา (dural membrane)ได้[56] เป็นต้น ส่วนในทางทันตกรรม จากการศึกษาของ Wannachaiyasit และ Phaechamud[57] ซึ่งศึกษาการพัฒนาคลอร์เฮ็กซิดีนเจลสำหรับฆ่าเชื้อในช่องปาก (mouth antiseptic) โดยใช้ poloxamer 407 (Lutrol F127) เป็นเจลเบส พบว่า poloxamer 407 ความเข้มข้น poloxamer 25 %w/w ช่วยชะลอการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนให้ออกมาอย่างช้าๆ ในการศึกษาความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง (สุนัขและกระต่าย) พบว่าการให้ poloxamer ที่ความเข้มข้น 5% w/v และ 10% w/v ในตา เหงือกและผิวหนัง จะไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง (nonirritating) หรือการแพ้ (nonsensitizing) แก่สัตว์ทดลอง

โพลีเอทิลีน ไกลคอล (Polyethylene glycol, PEG) หรือ มาโครกอล (macrogol)

เป็นกระสายยาชนิดที่ละลายน้ำ ลักษณะเป็นของเหลวหรือของแข็งก็ได้ โดยสามารถระบุได้จากตัวเลข ซึ่งเป็นค่าประมาณของน้ำหนักโมเลกุล ตัวเลขที่มากแสดงถึงสารมีความหนืดมากกว่าเช่นมาโครกอล 400 เป็นของเหลวในขณะที่มาโครกอล 4000 เป็นขี้ผึ้งที่เป็นของแข็ง มาโครกอลมีคุณสมบัติคือ เป็นสารที่ไม่ระเหย สามารถละลายหรือเข้ากันได้กับของเหลวที่ละลายน้ำ และไม่ดูดความชื้น มีความเฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จากการทดสอบด้วยวิธีปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (patch test) พบว่าสารประกอบในกลุ่มนี้ไม่มีความเป็นพิษ และการใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานานไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองมาโครกอลมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1.5

$$HOCH_2\,(CH_2OCH_2)_n\,CH_2OH$$

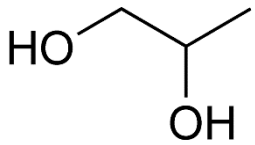
รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างโพลีเอทิลีน ไกลคอล

จุดหลอมเหลวของสารอยู่ที่อุณหภูมิ 58-62 องศาเซลเซียส (°C) โดยทั่วไปมักใช้ส่วนผสมสองชนิดที่มีโมเลกุลสูงและโมเลกุลต่ำเข้าด้วยกัน ซึ่งจะให้ผลที่ดีกว่า เช่น ผสมมาโครกอล 400 และมาโครกอล 4000[58,59] ในอัตราส่วน 3:2 โดยมีวิธีการเตรียม คือให้ความร้อนแก่ส่วนประกอบทั้งสองในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ให้มีอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (°C) ปล่อยให้เย็นลงและคนตลอดเวลาให้เข้ากันดีจนกระทั่งแข็งตัวจะได้สารที่มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง จาก

การศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่ามาโครกอลที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อจุลชีพได้หลากหลายชนิดทั้ง *Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis* และ *Escherichia coli*[60]

โพรพิลีนไกลคอล (Propylene glycol, PG)

โพรพิลีนไกลคอล หรือ 1,2-propanediol เป็นสารกลุ่มไกลคอล (glycol) ได้จากการสังเคราะห์โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างโพรพิลีนออกไซด์ (propylene oxide) กับน้ำ มีลักษณะเป็นของเหลว ค่อนข้างหนืดข้น ใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่นมีความเป็นพิษน้อยมาก[61] ถูกนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในยาทา ยาฉีด และเครื่องสำอาง รวมไปถึงเป็นส่วนผสมในอาหาร[62] มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 สูตรโครงสร้างโพรพิลีนไกลคอล

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า โพรพิลีนไกลคอลมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพที่พบเป็นประจำในคลองรากฟันที่ติดเชื้อได้[60,61,63,64]

โพรพิลีนไกลคอลถูกแนะนำให้ใช้สำหรับเป็นกระสายยาในงานเอ็นโดดอนติกส์ครั้งแรก โดย Laws ในปี 1962[65] จากนั้นได้ถูกนำมาศึกษาต่อโดยใช้เป็นกระสายยาผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์เปรียบเทียบกับการผสมกับน้ำเกลือและแคมโฟเลต พาราคลอโรฟีนอล (camphorated parachlorophenol) พบว่ากลุ่มที่ผสมกับโพรพิลีนไกลคอลให้ค่า pH ที่เหมาะสมในการออกฤทธิ์ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์และช่วยยืดระยะเวลาในการออกฤทธิ์ได้ด้วย[66]

นอกจากนั้นพบว่าโพรพิลีนไกลคอล ซึ่งเป็นสารหนืดที่มีค่าแรงตึงผิวต่ำสามารถนำยาแทรกซึมผ่านเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้เป็นอย่างดี[67] อีกทั้งโพรพิลีนไกลคอลยังมีคุณสมบัติที่ชอบดูดน้ำ ทำให้สามารถคงยาอยู่ในคลองรากฟันและปลดปล่อยยาได้เป็นระยะเวลานาน[68]

การศึกษาความไวของ *E. faecalis* และ *C. albicans* ต่อสารทดสอบ

การศึกษาความไวของ *E. faecalis* และ *C. albicans* ต่อสารทดสอบต่างๆ ในโมเดลฟัน การศึกษานี้ดัดแปลงจากการศึกษาของ Haapasalo และ Ørstavik[69] ในปี 1987 ศึกษาโดยการบ่มฟันกับเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* เป็นระยะเวลา 21 วัน และใช้หัวกรอฟันในการเก็บตัวอย่าง เป็นการเลียนแบบสภาวะแวดล้อมของคลองรากฟัน โดยทำการศึกษาในฟันมนุษย์ที่

ถอนออกมา การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในโมเดลฟันของสารต่างๆ มีหลายวิธี ซึ่งมีข้อดีข้อด้อยที่แตกต่างกัน เช่น

1. การใช้แท่งกระดาษรูปกรวย (paper point) มีข้อดีคือ สะดวก แต่สามารถทดสอบได้เฉพาะเชื้อที่อยู่ในคลองรากฟันเท่านั้น ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเชื้อที่อยู่ในท่อเนื้อฟัน (dentinal tubule) ชั้นในได้

2. การใช้ตะไบชนิดมือ (hand file) สามารถทดสอบเชื้อที่อยู่ในคลองรากฟัน และท่อเนื้อฟันชั้นที่อยู่ติดกับคลองรากฟันบางส่วนได้ แต่ไม่สามารถควบคุมบริเวณ และปริมาณของเนื้อฟันที่จะเก็บตัวอย่างได้

3. การใช้หัวกรอ สามารถทดสอบเชื้อที่อยู่ในคลองรากฟัน และท่อเนื้อฟันในแต่ละชั้นที่ต้องการได้โดยการเพิ่มขนาดของหัวกรอตามอัตราส่วนที่ต้องการได้ แต่เป็นวิธีการที่ยุ่งยากและต้องใช้เวลา

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* เมื่อใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟัน
2. เพื่อเปรียบเทียบ antimicrobial substantivity ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* เมื่อใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟัน

สมมติฐานการศึกษา

1. การใช้สารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 เพื่อเป็นสารใส่ในคลองรากฟันมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ไม่แตกต่างจากการใช้สารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล
2. การใช้สารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 มีคุณสมบัติ antimicrobial substantivity ในเนื้อฟันไม่แตกต่างกับสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลเมื่อใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟัน

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. โพลอกซาเมอร์ 407: P407 (ICI plc, Wilton, UK)
2. โพลีเอทิลีน ไกลคอล หรือมาโครกอล (Polyethylene glycol: PEG or Macrogol)
3. โพรพิลีนไกลคอล (Propylene glycol: PG)
4. 2% คลอร์เฮ็กซิดีนเจล (เลือกใช้คลอร์เฮ็กซิดีนสำเร็จรูปยี่ห้อConsepsis® V : Ultradent Products Inc, South JordanUT, USA)
5. สารประกอบซิลเวอร์
   5.1 *ซิลเวอร์คอมเพล็กซ์* (Silver complex; Ag-Complex) ความเข้มข้น 100 ppm
   5.2 ซิลเวอร์ออกไซด์ (Silver oxide; Ag_2O) ความเข้มข้น 12,700 ppm
   5.3 *ซิลเวอร์*ไนเตรต(Silver nitrate; $AgNO_3$) ความเข้มข้น 6,350 ppm
6. สารเคมี
   6.1 น้ำกลั่น
   6.2 น้ำเกลือปราศจากเชื้อ
   6.3 น้ำยาอีดีทีเอ (ethylenediaminetetraacetic acid: EDTA) ความเข้มข้นร้อยละ 17 (ฝ่ายเภสัชกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)
   6.4 น้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 (ฝ่ายเภสัชกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)
   6.5 สารละลายไทมอล (thymol) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (ฝ่ายเภสัชกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)
7. ผ้าก๊อซปราศจากเชื้อ
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion (Brain heart infusion, BHI: Becton, Dickinson & Co,Sparks, MD) 37 กรัมต่อ 1 ลิตร
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion Agar (Brain heart infusion Agar, BHI Agar: Becton, Dickinson & Co,Sparks, MD) 37 กรัม วุ้น 0.8 กรัมต่อ 1 ลิตร

10. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดผสมเลือด Blood agar base (BA): RCI Labscan Asia Co., Ltd 40 กรัม ต่อ 1 ลิตร
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose broth (SDB): Laboratories Conda S.A. 30 กรัม ต่อ 1 ลิตร
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA): Laboratories Conda S.A. 65 กรัม ต่อ 1 ลิตร
13. หัวกรอพีโซดริล (Peeso drill) เบอร์ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6
14. เครื่องชั่ง Digital ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius analytic รุ่น E5500s, Scientific promotion Co., LTD, USA)
15. เครื่องกรอฟันชนิดความเร็วช้า
16. เครื่องเขย่าสาร (Vortex: New York, USA)
17. ตู้บ่มเพาะเชื้อขนาด 400 ลิตร (Binder; Scientific promotion Co., LTD, USA)
18. หม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave: Tomy, Tokyo, Japan)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

1.1 การเตรียม Enterococcus faecalis ATCC 19433 *เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar* จากนั้นใช้ loop แตะเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยว จำนวน 3-5 โคโลนี นำมาใส่ในขวด sterile *ที่*มีอาหารเหลว BHI broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับเชื้อแบคทีเรียให้ได้ปริมาณ 10^8CFU/ml

1.2 การเตรียมเชื้อรา Candida albicans ATCC 90028 *เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA* จากนั้นใช้ loop แตะเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยว จำนวน 3-5 โคโลนี นำมาใส่ในขวด sterile *ที่มี*อาหารเหลว SDB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ aerobe เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นปรับเชื้อราให้ได้ปริมาณ 10^3 CFU/ml

2. การเตรียมสารประกอบซิลเวอร์ ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมกับโพรพิลีนไกลคอล

2.1 การเตรียมสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 (Poloxamer 407: P 407)

โพลอกซาเมอร์ 407 เลือกใช้ค่าความเข้มข้น 17% เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า ค่าความเข้มข้นดังกล่าว สารจะมี gelation temperature อยู่ในช่วงระหว่างอุณหภูมิห้อง และ

อุณหภูมิร่างกาย ซึ่งที่อุณหภูมิห้อง สารจะเป็นของเหลวทำให้ฉีดเข้าคลองรากฟันได้ง่าย และเมื่ออยู่ในคลองรากฟันที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น สารจะกลายเป็นเจลคงตัวอยู่ในคลองรากฟัน ช่วยชะลอการปลดปล่อยยาได้

เตรียมโดยนำสารโพลอกซาเมอร์ 407 เติมน้ำลงไปทำละลายที่อุณหภูมิห้องจนได้ปริมาตรตามที่คำนวณไว้ นำมาแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้สารละลายใสโพลอกซาเมอร์ 407 หลังจากนั้นเติมสารประกอบซิลเวอร์ลงไปในสารละลายโพลอกซาเมอร์ 407 ที่เตรียมไว้ให้ได้ปริมาตรและความเข้มข้นตามที่ต้องการ คนให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว โดยในการศึกษานี้จะเตรียมสารประกอบซิลเวอร์ ให้ได้ค่าความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 2 ความเข้มข้น คือความเข้มข้น ½ และ ¼ เท่า ของความเข้มข้นเดิม จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ความเข้มข้นของสารประกอบซิลเวอร์ในตัวนำส่งสารโพลอกซาเมอร์ 407 และตัวนำส่งสารมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล

Ag-Complex (ppm)	**Ag_2O (ppm)**	**$AgNO_3$ (ppm)**
½ เท่า (50)	½ เท่า (6350)	½ เท่า (3175)
¼ เท่า (25)	¼ เท่า (3175)	¼ เท่า (1587.5)

2.2 การเตรียมสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมกับโพรพิลีนไกลคอล (MP)

เตรียมส่วนมาโครกอลสำหรับทดลองโดยการผสมมาโครกอล 400 และมาโครกอล 4000[58,59] ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ในอัตราส่วน 3:2 โดยให้ความร้อนแก่ส่วนประกอบทั้งสองในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจากนั้นปล่อยให้เย็นลงและคนตลอดเวลาให้เข้ากันดีจนกระทั่งสารแข็งตัวจะได้สารลักษณะเป็นขี้ผึ้งดังแสดงในรูปที่ 2.2 หลังจากนั้นนำสารมาโครกอลที่ได้ ผสมกับโพรพิลีนไกลคอลในอัตราส่วน 1:1 ตามคำแนะนำของ Hoshino และคณะ[27]

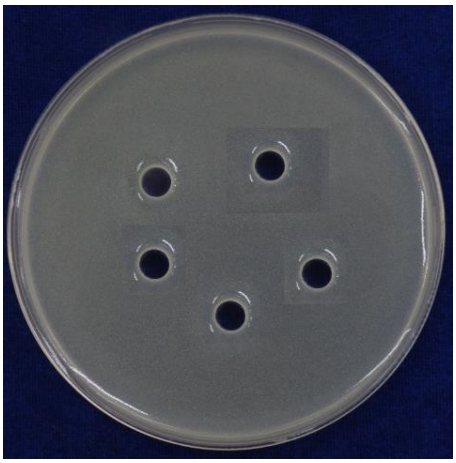
รูปที่ 2.1 มาโครกอล 400 และ 4000 ตามลำดับ

รูปที่ 2.2 มาโครกอลที่ได้จากการผสมโพลีเอทิลีน ไกลคอล 400 และ 4000

การผสมกับสารประกอบซิลเวอร์ที่ต้องการทดสอบ ทำได้โดยนำมาโครกอลผสมกับโพรพิลีนไกลคอล จากนั้นเติมสารประกอบซิลเวอร์ตามที่คำนวณไว้ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน สุดท้ายจะได้ความเข้มข้นของสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล ดังตารางที่ 2.1

3. **การทดสอบความไวของ *E. faecalis* และ *C. albicans* ต่อสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล** โดยใช้วิธี Agar well diffusion method

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion Agar (BHA) สำหรับเชื้อ *E. faecalis* และอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) สำหรับเชื้อ *C. albicans* ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนใช้นำไปอุ่นให้อาหารเลี้ยงเชื้อละลายจากนั้นรอให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียสเติมเชื้อ *E. faecalis* ที่ปรับให้ได้ปริมาณเชื้อ 10^8CFU/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHA และเชื้อ *C. albicans* ที่ปรับให้ได้ปริมาณเชื้อ 10^3CFU/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีวงแหวนโลหะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรวางอยู่ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อเย็นและแข็งตัว ถอดวงแหวนโลหะออก จะปรากฏหลุมสำหรับเติมสารดังแสดงในรูปที่ 2.3 เขียนหมายเลขกำกับไว้ใต้จานเพาะเชื้อเติมสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407, สารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล, ตัวอย่างควบคุมลบ (negative control) คือโพลอกซาเมอร์ 407 (P407) และมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล (MP) ตัวอย่างควบคุมบวก (positive control) คือ Concepsis® V (2% คลอร์เฮ็กซิดีนเจล)ที่ต้องการทดสอบลงไปปริมาตร 80 ไมโครลิตร/หลุม จะได้กลุ่มทดสอบทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 2.2



รูปที่ 2.3 ลักษณะหลุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเติมสารทดสอบ

ตารางที่ 2.2 แสดงกลุ่มทดสอบ Agar well diffusion method

Ag-complex (ppm)	**Ag_2O (ppm)**	**$AgNO_3$ (ppm)**	**Control (negative)**	**Control (positive)**
½ เท่า (50 ppm)	½ เท่า (6350 ppm)	½ เท่า (3175 ppm)	P 407	Consepsis® V
¼ เท่า (25 ppm)	¼ เท่า (3175 ppm)	¼ เท่า (1587.5 ppm)	MP	

จากนั้นบ่มเชื้อด้วยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อที่ใช้ทดสอบ ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หากพบวงใสรอบหลุมของสาร (inhibition zone) ที่ทดสอบ แสดงว่าสารนั้นมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราที่ใช้ทดสอบ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสด้วยไม้บรรทัด (vernier caliper)

4. **การศึกษาความไวของเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ต่อสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลที่เตรียมขึ้นในโมเดลฟัน** (ดัดแปลงจากการศึกษาของ Haapasalo และ ørstavik, 1987)[69]

ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ในโมเดลฟันโดยชนิดของสารประกอบซิลเวอร์ที่นำมาใช้ศึกษา จะเลือกจากสารประกอบซิลเวอร์ที่ให้ผลดีที่สุดในตัวนำส่งสารแต่ละชนิดจากผล Agar well diffusion method และค่าความเข้มข้นที่ใช้ศึกษาในเชื้อแต่ละชนิดจะอ้างอิงมาจาก ผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งและทำลายไบโอฟิล์มได้ 100%ซึ่งได้มาจากงานวิจัยที่ได้ศึกษาก่อนหน้า

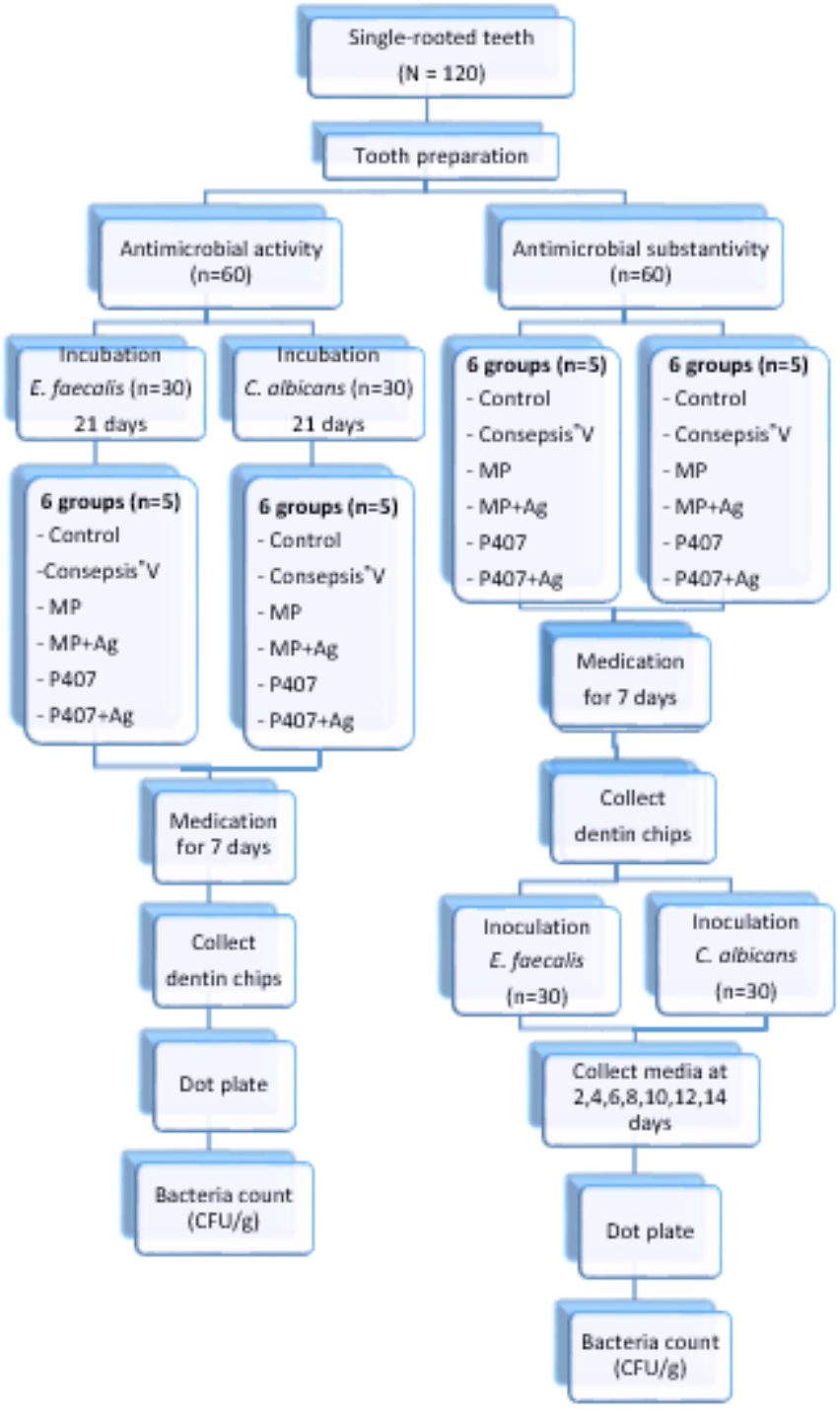
4.1 การเตรียมฟัน

เตรียมฟันมนุษย์ที่มีส่วนรากที่สมบูรณ์ ไม่มีการแตกหัก ไม่มีรอยร้าว และมีการสร้างรากฟันเสร็จสมบูรณ์ โดยมี 1 รากที่ตรง และมี 1 คลองรากฟัน จำนวน 120 ซี่ เก็บในสารละลาย thymol ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จนกว่าจะใช้ จากนั้นใช้เครื่องตัดชิ้นตัวอย่างรุ่น Isomet 4000 ทำการตัดส่วนปลายรากฟัน 3 มิลลิเมตร และตัดส่วนตัวฟันที่ใต้ต่อระดับรอยต่อเคลือบฟันกับเคลือบรากฟัน (cementoenamel junction) โดยให้เหลือส่วนรากฟันประมาณ 6 มิลลิเมตรจากนั้นใช้เครื่องมือ Peeso drill เบอร์ 1-3 กรอภายในคลองรากฟัน เพื่อให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่าๆกัน (1.1 มิลลิเมตร) และทำการวัดความหนาของฟันที่เหลือ

ทำการกำจัดชั้นสเมียร์ (smear layer) โดยนำชิ้นฟันใส่ในเครื่อง ultrasonic bath ที่มี 17% EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) เป็นเวลา 5 นาที แล้วตามด้วย 5.25%โซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นแช่ด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาทีเพื่อกำจัดสารที่อาจหลงเหลืออยู่ ทำการปราศจากเชื้อ โดยชิ้นฟันกลุ่มที่จะทำการทดสอบเชื้อ *E. faecalis* ใส่ในขวดแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ส่วนชิ้นฟันกลุ่มที่จะทำการทดสอบเชื้อ *C. albicans* ใส่ในขวดแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ SDB จากนั้นนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที นำออกมาบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบความปราศจากเชื้อของชิ้นฟันหลังจากนั้นแบ่งฟันออกเป็นสองกลุ่มสำหรับการทดสอบ

กลุ่มที่ 1 ทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อ จำนวน 60 ซี่

กลุ่มที่ 2 ทดสอบความสามารถในการคงฤทธิ์ของสาร จำนวน 60 ซี่ ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กลุ่มตัวอย่างสำหรับการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์ของสาร

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้สารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ในคลองรากฟันโดยใช้แบบจำลองฟันมนุษย์

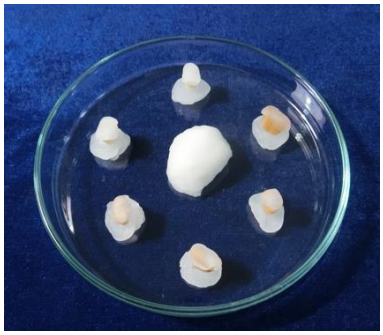
(ดัดแปลงจากการศึกษาของ Haapasalo และ Ørstavik[69], Vaghela และคณะ[70])

4.2.1 การใส่เชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans*

นำเชื้อทดสอบ *E. faecalis* ที่ถูกเตรียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ปรับให้ได้ปริมาณเชื้อสุดท้ายเท่ากับ 10^8CFU/ml และเชื้อ *C. albicans* ที่ถูกเตรียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDB ปรับให้ได้ปริมาณเชื้อสุดท้ายเท่ากับ 10^7 CFU/ml ใส่ในภาชนะแก้วที่มีชิ้นฟัน 6 ชิ้นต่อขวด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth และ SDB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน ทำการดูดสารละลายมาบ่มเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar สำหรับเชื้อ *E. faecalis* และอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA สำหรับเชื้อ *C. albicans* เพื่อทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอล

หลังจากเตรียมฟันด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้ว นำชิ้นฟันที่เตรียมได้มาแบ่งออกเป็นกลุ่ม ตามชนิดของสารทดสอบและเชื้อที่ใช้ทดสอบ วางชิ้นฟันลงในจานเพาะเชื้อ 6 ชิ้นต่อจาน ยึดส่วนล่างกับ periphery wax ที่ปราศจากเชื้อ ใส่สารทดสอบแต่ละกลุ่มในคลองรากฟันด้วย autopipette ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ปิดส่วนบนด้วย periphery wax ที่ปราศจากเชื้อ วางสำลีชุบน้ำกลั่นพอหมาดที่ปราศจากเชื้อลงในจานเพาะเชื้อและปิดด้วยพาราฟิล์ม (parafilm) เพื่อให้ภายในมีความชื้นสัมพัทธ์ 100% ทำการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การวางชิ้นฟันลงในจานเพาะเชื้อ

เมื่อครบกำหนดเวลา นำชิ้นฟันล้างสารที่ใส่ด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำให้แห้งโดยวางบนผ้าก๊อซที่ปราศจากเชื้อ ใช้เครื่องมือ Peeso drill เบอร์ 4, 5 และ 6 กรอ

ภายในคลองรากฟัน เพื่อเป็นการเก็บตัวอย่างเนื้อฟันที่ 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิเมตรตามลำดับ นำส่วนผงเนื้อฟัน (dentin chips) แต่ละชั้นที่ได้นำมาชั่งน้ำหนักและผสมกับ 0.85% sterile saline ปริมาตร 100 ไมโครลิตรทำ 10-fold serial dilution 4 ครั้ง แล้วนำแต่ละความเข้มข้นที่ได้จำนวน 10 ไมโครลิตร ไปบ่มเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar สำหรับเชื้อ *E. faecalis* และ SDA สำหรับเชื้อ *C. albicans* ด้วยวิธี dot plate ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แปลผลโดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ต่อน้ำหนักผงเนื้อฟัน (CFU/g)

4.3 การศึกษา antimicrobial substantivity ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลโดยใช้แบบจำลองฟันมนุษย์ (ดัดแปลงจากการศึกษาของ Basrani[33], Baca และคณะ[71])

หลังจากเตรียมฟันด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้วแบ่งฟันออกเป็นกลุ่ม ตามชนิดของสารทดสอบและเชื้อที่ใช้ทดสอบ วางชิ้นฟันลงในจานเพาะเชื้อ 6 ชิ้นต่อจาน ยึดส่วนล่างกับ periphery wax ที่ปราศจากเชื้อ ใส่สารทดสอบแต่ละกลุ่มในคลองรากฟันด้วย autopipette ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ปิดส่วนบนด้วย periphery wax ที่ปราศจากเชื้อ วางสำลีชุบน้ำกลั่นพอหมาดที่ปราศจากเชื้อลงในจานเพาะเชื้อและปิดด้วยพาราฟิล์ม เพื่อให้ภายในมีความชื้นสัมพัทธ์ 100% ใส่สารค้างไว้ในคลองรากฟันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำชิ้นฟันล้างสารที่ใส่ด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำให้แห้งนำชิ้นฟันมากรอภายในคลองรากฟันโดยใช้เครื่องมือ Peeso drill เบอร์ 4, 5 และ 6 เพื่อเป็นการเก็บตัวอย่างเนื้อฟันแล้วนำมาชั่งน้ำหนักให้เท่าๆกันในแต่ละกลุ่ม

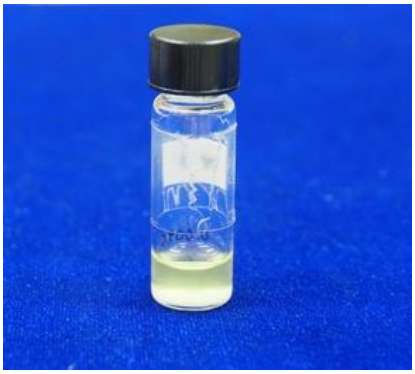
4.3.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

นำเชื้อทดสอบ *E. faecalis* ปรับให้มีปริมาณเชื้อสุดท้าย 10^4 CFU/ml และเชื้อ *C. albicans* ปรับให้มีปริมาณเชื้อสุดท้ายเท่ากับ 10^3 CFU/ml

4.3.2 การทดสอบ substantivity

นำส่วนผงเนื้อฟัน (dentin chips) ผสมกับเชื้อทดสอบตามกลุ่มทดลองที่แบ่งไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อขวดแก้วทำการปิดฝา ดังแสดงในรูปที่ 2.6 จากนั้นนำขวดผงเนื้อฟันที่ผสมเชื้อใส่ในถ้วยแก้ว (beaker) คลุมด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย ทำการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ 100% โดยจะทำการเก็บตัวอย่างสารละลายจำนวน 20 ไมโครลิตร ต่อขวด ทุก 48 ชั่วโมง (เก็บตัวอย่างจนกระทั่งสารละลายมีเชื้อขึ้น) นำตัวอย่างสารละลายทำ 10-fold serial dilution 4 ครั้งแล้วนำแต่ละความเข้มข้นที่ได้จำนวน 10 ไมโครลิตร ไปบ่มเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี dot plate ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ บ่มเพาะที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีเชื้อขึ้นจะแปลผลโดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ต่อน้ำหนักผงเนื้อฟัน (CFU/g) ส่วนในกรณีที่ตัวอย่างใดไม่มีเชื้อขึ้น จะถือว่าเป็นผลลบ



รูปที่ 2.6 ผงเนื้อฟันในขวดแก้วที่ผสมกับเชื้อทดสอบ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. **การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion method**

   ทำการวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำไปวิเคราะห์ต่อโดย

   1.1 หากข้อมูลที่ได้เป็น normal distribution

   ใช้สถิติ One-way ANOVA ตามด้วย multiple comparisons by Tukey tests

   1.2 หากข้อมูลที่ได้ไม่เป็น normal distribution

   ใช้สถิติ Kruskul-Wallis test ตามด้วย Mann-Whitney U test

2. **การทดสอบ antimicrobial activity**

   เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ของแต่ละกลุ่ม และในแต่ละระดับของเนื้อฟัน โดยใช้การทดสอบ Kruskul-Wallis test นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และหากพบความแตกต่างทางสถิติจะทำการเปรียบเทียบกลุ่มการศึกษาโดยสถิติ Mann-Whitney U test

3. **การทดสอบ antimicrobial substantivity**

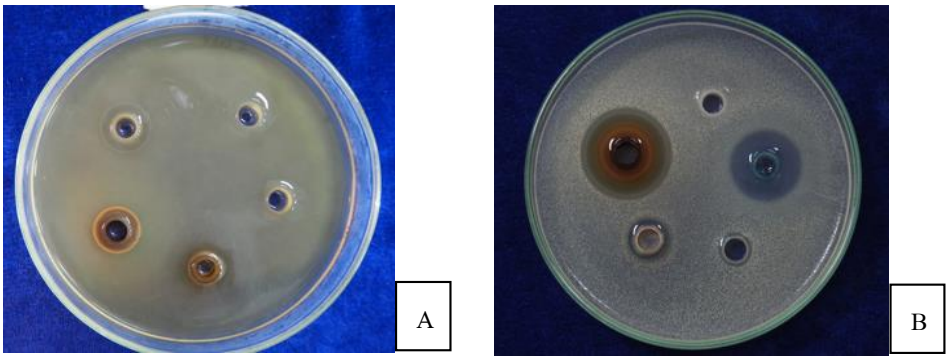
   เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ของแต่ละกลุ่ม โดยใช้การทดสอบ Kruskul-Wallis test นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และหากพบความแตกต่างทางสถิติจะทำการเปรียบเทียบกลุ่มการศึกษาโดยสถิติ Mann-Whitney U test

บทที่ 3

ผลการวิจัย

การศึกษาที่ 1 การทดสอบความไวของ *E. faecalis* และ *C. albicans* ต่อสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลโดยใช้วิธี Agar well diffusion method

จากผลการศึกษาพบว่า กลุ่มทดสอบ Consepsis® V, MP, MP+Ag-Complex, MP+Ag_2O, MP+$AgNO_3$, P407+Ag-Complex, P407+Ag_2O และ P407+$AgNO_3$ มีผลทำให้เกิดโซนยับยั้งการเจริญเติบโตของทั้งเชื้อ *E. faecalis*และ *C. albicans* ในขณะที่กลุ่มทดสอบ P407 ไม่ทำให้เกิดโซนยับยั้ง ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 โซนยับยั้งที่เกิดขึ้นเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *E. faecalis* (A), โซนยับยั้งที่เกิดขึ้นเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *C. albicans* (B)

เมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *E. faecalis* พบว่าโซนยับยั้งที่เกิดขึ้นจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7.09 - 15.27 มิลลิเมตร และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *C. albicans* โซนยับยั้งที่เกิดขึ้นจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7.05 – 27.80 มิลลิเมตร โดยพบว่ากลุ่มทดสอบที่สามารถทำให้เกิดโซนยับยั้งสูงที่สุดคือ MP+$AgNO_3$ ที่ความเข้มข้น 3,000 ppm สำหรับเชื้อ *E. faecalis* มีค่าโซนยับยั้งเท่ากับ 15.27 ± 0.25 มิลลิเมตร ส่วนเชื้อ *C. albicans* มีค่าโซนยับยั้งเท่ากับ 27.80 ± 1.50 มิลลิเมตรตามด้วยกลุ่ม P407+$AgNO_3$, Consepsis® V, MP+Ag_2O, P407+Ag_2O, MP+Ag-Complex, P407+Ag-Complex และ MP ตามลำดับ และนอกจากนี้พบว่ากลุ่มทดสอบทุกชนิดที่สารประกอบซิลเวอร์มีค่าความเข้มข้นสูงกว่าจะเกิดโซนยับยั้งที่มากกว่าด้วย โดยค่าเฉลี่ยโซนยับยั้งของสารแต่ละกลุ่มแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 โซนยับยั้งของกลุ่มทดสอบ Consepsis® V, MP, P407, MP+silver compound และP407+silver compound ในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ด้วยวิธี Agar well diffusion method

กลุ่มทดสอบ	ความเข้มข้นสารประกอบซิลเวอร์ (ppm)	*Enterococcus faecalis*		*Candida albicans*	
		Combined with P407 Mean±SD, (mm)	**Combined with MP Mean±SD, (mm)**	**Combined with P407 Mean±SD, (mm)**	**Combined with MP Mean±SD, (mm)**
Consepsis® V	-	14.53±0.50		20.62±1.06	
MP	-	7.09±0.19		7.05±0.20	
P407	-	6±0.00		6±0.00	
Ag-complex	50	7.75±0.35	7.77±0.25	9.13 ±1.14	9.31 ±1.01
	25	7.24±0.38	7.50±0.00	7.31±0.45	8.38±0.67
Ag_2O	6,000	8.59±0.46	10.00±0.00	11.91±0.45	12.37±0.59
	3,000	8.06±0.32	8.88±0.25	8.58±0.34	10.90±0.77
$AgNO_3$	3,000	14.87±1.10	15.27±0.25	26.05 ±1.90	27.80 ±1.50
	1,500	12.33±0.94	13.70±1.15	17.75±1.04	21.94±0.97

การศึกษาที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้สารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ในคลองรากฟันโดยใช้แบบจำลองฟันมนุษย์

จากการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ในหน่วย logCFU/g ในแต่ละระดับความลึกของเนื้อฟันเมื่อผ่านการใส่สารทดสอบกลุ่มต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน แสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ในหน่วย LogCFU/g (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในแต่ละระดับชั้นเนื้อฟันเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

*ความเข้มข้น $AgNO_3$ สำหรับใช้ในเชื้อ *E. faecalis* มีค่าเท่ากับ 4,700 ppm

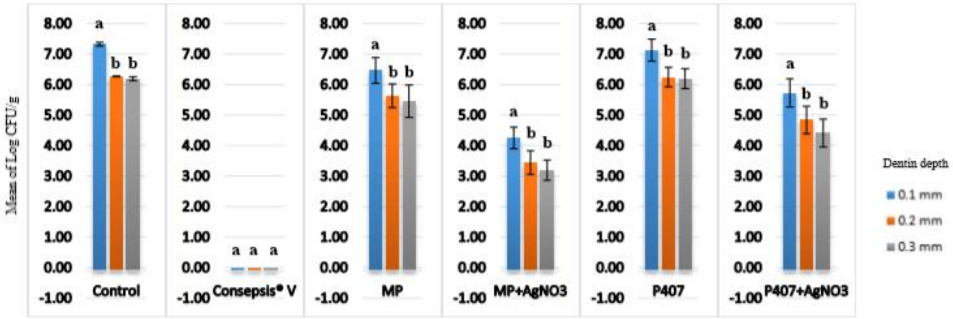
**ความเข้มข้น $AgNO_3$ สำหรับใช้ในเชื้อ *C. albicans* มีค่าเท่ากับ 200 ppm

กลุ่ม	**ค่าเฉลี่ยในหน่วย LogCFU/mg**					
	E. faecalis*			***C. albicans****		
	0.1 mm	**0.2 mm**	**0.3 mm**	**0.1 mm**	**0.2 mm**	**0.3 mm**
Control	7.32±0.07	6.27±0.01	6.19±0.06	5.92±0.09	4.34±0.07	4.28±0.09
Consepsis® V	0±0.00	0±0.00	0±0.00	0±0.00	0±0.00	0±0.00
MP	6.47±0.42	5.63±0.39	5.45±0.53	4.62±0.54	3.62±0.37	3.42±0.45
MP+ $AgNO_3$	4.25±0.35	3.44±0.39	3.19±0.33	0±0.00	0±0.00	0±0.00
P407	7.13±0.36	6.25±0.32	6.19±0.33	5.57±0.40	4.34±0.47	4.24±0.44
P407+ $AgNO_3$	5.73±0.46	4.84±0.45	4.41±0.45	3.57±0.21	2.75±0.20	2.74±0.20

จากตารางที่ 3.2 กล่าวคือพบการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ในทุกระดับความลึกของเนื้อฟันในกลุ่มการทดสอบ Control, MP, MP+$AgNO_3$, P407 และ P407+$AgNO_3$เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติครัสคัล-วอลิส ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ในแต่ละระดับเนื้อฟัน โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อในหน่วย logCFU/g ของแต่ละระดับเนื้อฟันด้วยสถิติแมนวิทนีย์ พบว่าทุกกลุ่มทดสอบมีแนวโน้มเหมือนกันคือ

ที่ระดับ 0.1 มิลลิเมตรพบเชื้อมากที่สุด ในขณะที่ระดับ 0.2 และ 0.3 มิลลิเมตร พบปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกัน ส่วนกลุ่มทดสอบ Consepsis® V ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ในทุกระดับความลึกของเนื้อฟัน ดังแสดงในรูปที่ 3.2 และแผนภูมิที่ 3.1

รูปที่ 3.2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* เมื่อนำตัวอย่างมาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar (บน) กลุ่มที่ไม่มีเชื้อ *E. faecalis* ขึ้น และ (ล่าง) กลุ่มที่มีเชื้อ *E. faecalis* ขึ้น

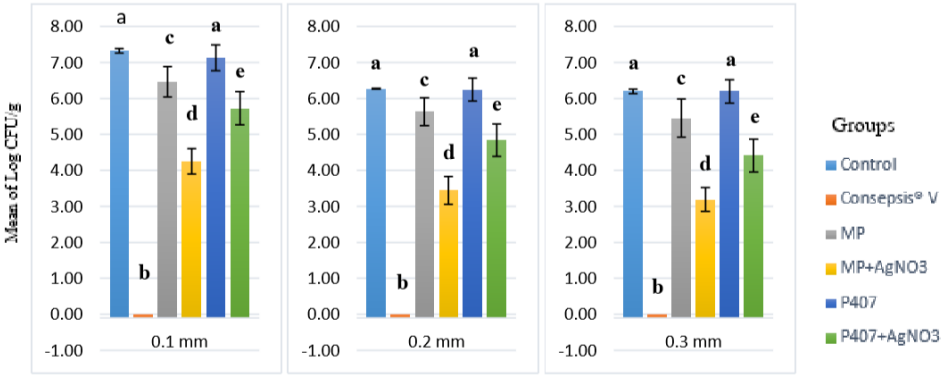


แผนภูมิที่ 3.1 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ของแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน แยกตามกลุ่มทดสอบ เมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มทดสอบ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดสอบด้วยสถิติครัสคัล-วอลิส ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ระหว่างกลุ่มในแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อในหน่วย logCFU/g ของกลุ่มทดสอบต่างๆด้วยสถิติแมนวิทนีย์ พบว่ากลุ่มทดสอบที่สามารถต้านเชื้อ *E. faecalis* ได้เรียงตามลำดับจากมากไปน้อยคือ Consepsis® V, MP+$AgNO_3$, P407+$AgNO_3$ และ MP ตามลำดับซึ่งทุกกลุ่มดังกล่าวข้างต้นมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E. faecalis* สูงกว่ากลุ่ม

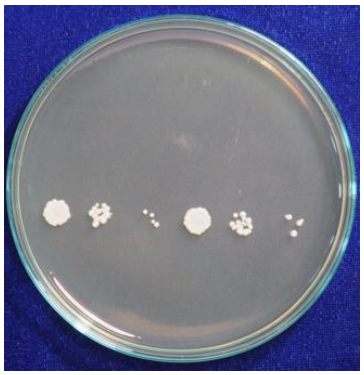
Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย logCFU/g ระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่ม P407 ด้วยสถิติแมนวิทนีย์ไม่พบความแตกต่างกัน แสดงว่าสาร P407 ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3.2



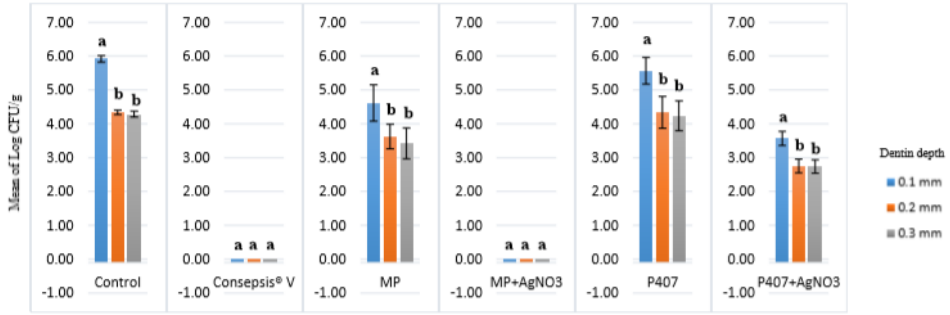
แผนภูมิที่ 3.2 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ของแต่ละกลุ่มทดสอบ แยกตามระดับชั้นเนื้อฟัน เมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับชั้น หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในส่วนการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ *C. albicans* พบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อในทุกระดับความลึกของเนื้อฟันในกลุ่มทดสอบ Control, MP, P407 และ P407+$AgNO_3$ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติครัสคัล-วอลิส ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละระดับเนื้อฟัน โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อในหน่วย logCFU/g ของแต่ละระดับเนื้อฟันด้วยสถิติแมนวิทนีย์ พบว่าทุกกลุ่มมีแนวโน้มเหมือนกันคือที่ระดับ 0.1 มิลลิเมตรพบเชื้อมากที่สุด ในขณะที่ระดับ 0.2 และ 0.3 มิลลิเมตรพบปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกัน ส่วนกลุ่มทดสอบ Consepsis® V และ MP+$AgNO_3$ ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ในทุกระดับความลึกของเนื้อฟัน ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และแผนภูมิที่ 3.3



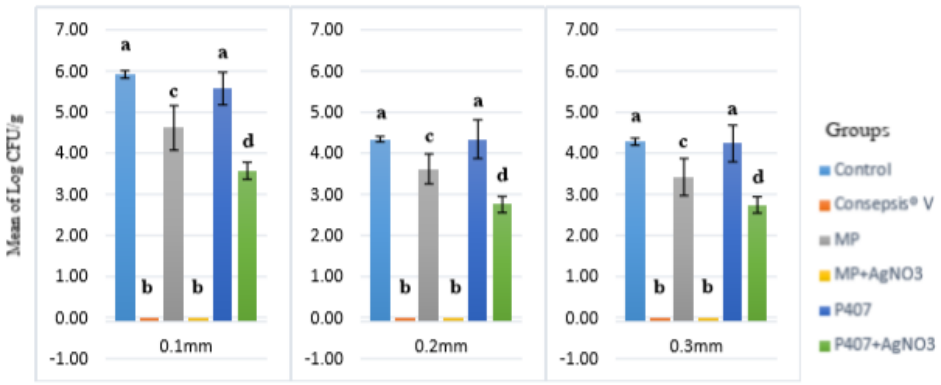
รูปที่ 3.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *C. albicans* เมื่อนำตัวอย่างมาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA (บน) กลุ่มที่ไม่มีเชื้อ *C. albicans* ขึ้น และ (ล่าง) กลุ่มที่มีเชื้อ *C. albicans* ขึ้น



แผนภูมิที่ 3.3 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ของแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน แยกตามกลุ่มทดสอบเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มทดสอบ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดสอบด้วยสถิติครัสคัล-วอลิส ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ระหว่างกลุ่มทดสอบในแต่ละระดับชั้นเนื้อฟัน โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อในหน่วย logCFU/g ของกลุ่มทดสอบต่างๆด้วยสถิติแมนวิทนีย์ พบว่ากลุ่มทดสอบที่สามารถต้านเชื้อ *C. albicans* ได้มากเรียงตามลำดับคือ Consepsis® V สามารถต้านเชื้อได้ในทุกระดับของเนื้อฟันเทียบเท่ากับกลุ่ม MP+$AgNO_3$ รองลงมาคือกลุ่ม P407+$AgNO_3$ และ MP ตามลำดับซึ่งทุกกลุ่มดังกล่าวข้างต้นมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C. albicans* สูงกว่ากลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย logCFU/g ระหว่างกลุ่ม Control และกลุ่ม P407 ด้วยสถิติแมนวิทนีย์ไม่พบความแตกต่างกัน แสดงว่าสาร P407 ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3.4



แผนภูมิที่ 3.4 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ของแต่ละกลุ่มทดสอบ แยกตามระดับชั้นเนื้อฟันเมื่อใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับชั้น หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาที่ 3 การศึกษา antimicrobial substantivity ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 และสารประกอบซิลเวอร์ในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลโดยใช้แบบจำลองฟันมนุษย์

จากการศึกษาพบว่า กลุ่มการทดสอบ Control, MP, MP+$AgNO_3$, P407 และ P407+$AgNO_3$ มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ขึ้นตั้งแต่การเก็บตัวอย่างสารละลายครั้งแรก กล่าวคือพบเชื้อในวันที่ 2 หลังใส่เชื้อ แต่ในกลุ่ม Consepsis® V ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans* เมื่อทำการเก็บตัวอย่างสารละลายต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 โดยค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* ที่พบในแต่ละวันแสดงในตารางที่ 3.3 และค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *C. albicans* ที่พบในแต่ละวันแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *E. faecalis* ในหน่วย Log CFU/g
(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในช่วงระยะเวลา 14 วัน
ของแต่ละกลุ่มทดสอบหลังจากใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน
(*) หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการศึกษาในแต่ละวัน

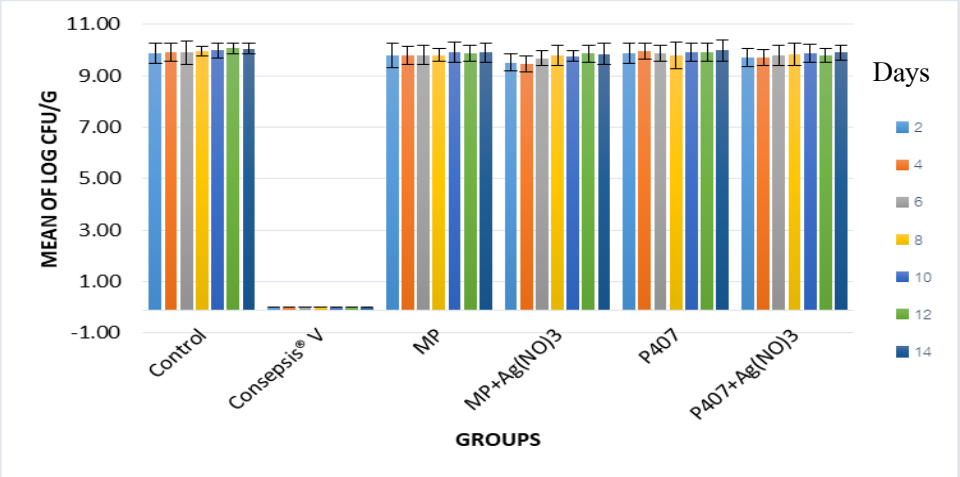
กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยในหน่วย Log CFU/g (*E.F.*)						
	Days						
	2	4	6	8	10	12	14
Control	9.87 ± 0.39	9.92 ± 0.35	9.91 ± 0.46	9.97 ± 0.20	9.98 ± 0.28	10.07 ± 0.20	10.06 ± 0.21
Consepsis® V	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *
MP	9.78 ± 0.48	9.79 ± 0.35	9.81 ± 0.37	9.81 ± 0.23	9.91 ± 0.39	9.89 ± 0.31	9.91 ± 0.37
MP+$AgNO_3$	9.52 ± 0.34	9.48 ± 0.32	9.68 ± 0.30	9.81 ± 0.38	9.77 ± 0.22	9.86 ± 0.33	9.85 ± 0.42
P407	9.88 ± 0.41	9.96 ± 0.32	9.89 ± 0.30	9.79 ± 0.51	9.92 ± 0.36	9.92 ± 0.34	9.99 ± 0.42
P407+$AgNO_3$	9.72 ± 0.36	9.71 ± 0.30	9.80 ± 0.39	9.84 ± 0.42	9.88 ± 0.36	9.79 ± 0.27	9.91 ± 0.29

ตารางที่ 3.4 ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ *C. albicans* ในหน่วย Log CFU/g
(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในช่วงระยะเวลา 14 วัน
ของแต่ละกลุ่มทดสอบหลังจากใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน
(*)หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการศึกษาในแต่ละวัน

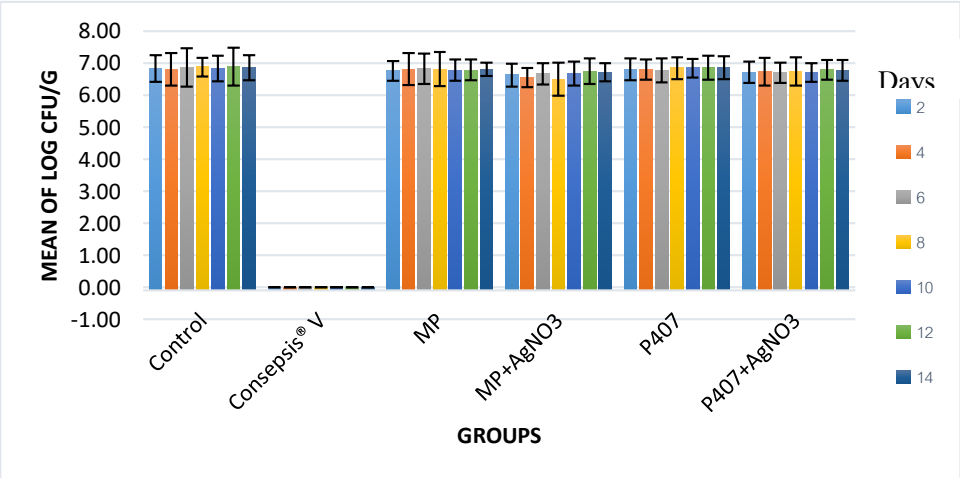
กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยในหน่วย Log CFU/g (*C.A.*)						
	Days						
	2	4	6	8	10	12	14
Control	6.83 ± 0.41	6.81 ± 0.51	6.87 ± 0.60	6.87 ± 0.29	6.84 ± 0.40	6.89 ± 0.59	6.86 ± 0.39
Consepsis® V	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *	0 ± 0.00 *
MP	6.76 ± 0.31	6.81 ± 0.50	6.83 ± 0.47	6.82 ± 0.53	6.78 ± 0.33	6.79 ± 0.32	6.81 ± 0.21
MP+$AgNO_3$	6.63 ± 0.36	6.55 ± 0.30	6.67 ± 0.33	6.51 ± 0.52	6.68 ± 0.38	6.75 ± 0.40	6.72 ± 0.28
P407	6.81 ± 0.34	6.80 ± 0.32	6.77 ± 0.38	6.85 ± 0.34	6.84 ± 0.29	6.85 ± 0.38	6.85 ± 0.36
P407+$AgNO_3$	6.71 ± 0.33	6.73 ± 0.43	6.70 ± 0.32	6.75 ± 0.44	6.71 ± 0.30	6.79 ± 0.31	6.77 ± 0.32

เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติครัสคัล-วอลิส ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญเติบโตทั้งเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อ *C. albicans* ระหว่างกลุ่มทดสอบ Control, MP, MP+$AgNO_3$, P407 และ P407+$AgNO_3$ เมื่อทำการเปรียบเทียบ

ในวันเดียวกัน และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อในหน่วย logCFU/g ของแต่ละกลุ่มทดสอบด้วยสถิติวิลคอกซัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกช่วงเวลาทดสอบของกลุ่มทดสอบแต่ละกลุ่ม ทั้งในเชื้อ *E. faecalis* ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3.5 และเชื้อ *C. albicans* ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3.6



แผนภูมิที่ 3.5 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *E. faecalis* ในช่วงระยะเวลา 14 วัน ของแต่ละกลุ่มทดสอบหลังจากใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน



แผนภูมิที่ 3.6 ค่าเฉลี่ย LogCFU/g เชื้อ *C. albicans* ในช่วงระยะเวลา 14 วัน ของแต่ละกลุ่มทดสอบหลังจากใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน

บทที่ 4

บทวิจารณ์

ในกรณีของการรักษาคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลว เชื้อที่พบเป็นส่วนมากคือเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* โดยในปัจจุบันสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อดังกล่าวได้ดีคือคลอร์เฮ็กซิดีน เนื่องจากสามารถต้านเชื้อจุลชีพแบบกว้าง สามารถคงฤทธิ์ต้านเชื้ออยู่ได้นาน อีกทั้งมีความเป็นพิษน้อย[72] แต่เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องไม่สามารถใช้ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอร์ไรด์ (NaOCl)[73] ซึ่งเป็นน้ำยาที่นิยมใช้ในการล้างคลองรากฟันได้ทำให้มีความต้องการพัฒนาสารตัวใหม่ที่สามารถใช้ต้านเชื้อในคลองรากฟันให้ได้ประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น และลดข้อจำกัดดังกล่าว จึงทำให้มีการศึกษาในครั้งนี้เกิดขึ้น โดยการศึกษาจะแบ่งเป็น 3 การทดลองคือ 1. การทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusionmethod เพื่อเลือกชนิดของสารประกอบซิลเวอร์ในตัวนำส่งสารที่ให้ผลดีที่สุดในการต้านเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans* เพื่อนำมาศึกษาต่อในแบบจำลองฟันมนุษย์
2. การศึกษาในแบบจำลองฟันมนุษย์เพื่อดูประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและ 3. การศึกษาในแบบจำลองฟันมนุษย์เพื่อดูความสามารถในการคงฤทธิ์ของสารประกอบซิลเวอร์ในตัวนำส่งสารในการต้านเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans*

การทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion method ทำให้ได้ข้อสรุปว่า สารประกอบซิลเวอร์ทั้งสามชนิดคือ Ag-complex, Ag_2O และ $AgNO_3$ ที่ใช้ศึกษา สารที่ให้ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans* ได้ดีที่สุดคือ สารประกอบ $AgNO_3$ ในตัวนำส่งสารทั้ง MP และ P407 แต่การทดลองดังกล่าวเป็นเพียงการต้านเชื้อในสภาวะเจริญอยู่แบบเดี่ยวเท่านั้นดังนั้นเมื่อจะทำการศึกษาต่อในแบบจำลองฟันมนุษย์ที่มีการเพาะเชื้อ และเชื้ออยู่ในสภาวะไบโอฟิล์ม จึงต้องใช้ความเข้มข้นของสารที่สูงขึ้นเพื่อให้สามารถกำจัดเชื้อในสภาวะไบโอฟิล์มได้ โดยจากการศึกษาในปี 2007 พบว่าการกำจัดเชื้อในสภาวะไบโอฟิล์มต้องใช้ความเข้มข้นสารสูงกว่าการกำจัดเชื้อในสภาวะเจริญอยู่แบบเดี่ยวมากถึง 100 เท่า[74] ดังนั้นการเลือกปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของ $AgNO_3$ ที่จะนำมาศึกษาในแบบจำลองฟันมนุษย์ จึงอ้างอิงมาจากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการก่อนหน้านี้โดยนำมาจากค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งและทำลายไบโอฟิล์มได้ 100% สำหรับเชื้อ *E. faecalis* มีค่า 3,175 ppm ส่วนเชื้อ *C. albicans* มีค่า 100 ppm ดังนั้นการศึกษาในแบบจำลองฟันมนุษย์จึงเลือกใช้ค่าความเข้มข้นสารที่มากกว่าค่าดังกล่าว โดยการศึกษาในเชื้อ *E. faecalis* ใช้ค่าความเข้มข้น 4,700 ppm และการศึกษาในเชื้อ *C. albicans* ใช้ความเข้มข้น 200 ppm

จากผลการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ในแบบจำลองฟันมนุษย์ของกลุ่มการทดสอบ MP, MP+$AgNO_3$, P407, P407+$AgNO_3$, Consepsis® V และ Control พบว่าความสามารถในการต้านเชื้อ *E. faecalis* หลังจากที่ใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน คือ ทุกกลุ่มการทดลองสามารถลดเชื้อที่อยู่ในเนื้อฟันในทุกความลึกจากผนังคลองรากฟัน 0.1-0.3 มิลลิเมตรได้ ยกเว้นกลุ่มที่ใส่สารทดสอบ P407 และกลุ่ม Control ที่ไม่ได้ใส่สารไว้ในคลองรากฟัน ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้พบว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ได้เลยในทุกระดับความลึกจากผนังคลองรากฟัน โดยกลุ่มทดลองที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ได้มากที่สุดคือกลุ่ม Consepsis® V ซึ่งไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อทุกระดับความลึกในเนื้อฟันรองลงมาคือกลุ่ม MP+ $AgNO_3$, P407+$AgNO_3$และ MP ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่ากลุ่มทดสอบที่มี $AgNO_3$ ผสมอยู่ด้วยจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดสอบที่ใส่เฉพาะตัวนำส่งสารในคลองรากฟัน แสดงว่า $AgNO_3$ ที่ใช้ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. faecalis* ได้และนอกจากนั้นยังสามารถกำจัดเชื้อในระดับที่ลึกจากผนังคลองรากฟันได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Zander H. และคณะ[75,76] ที่พบว่า$AgNO_3$ สามารถแทรกซึมผ่านผนังคลองรากฟันเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ และการศึกษาของ Wan-Hong Lan[22] ที่ศึกษาโดยการใส่สารละลาย $AgNO_3$ ในคลองรากฟันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการตัดฟันและวัดการติดสีในท่อเนื้อฟันพบว่าสาร $AgNO_3$ สามารถแทรกซึมผ่านท่อเนื้อฟันได้ โดยแทรกซึมผ่านตำแหน่งคอฟันได้ดีกว่าตำแหน่งปลายรากฟัน แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นจากการศึกษานี้พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของ $AgNO_3$ ยังไม่สูงมากนักโดยเฉพาะเมื่อเทียบกับ Consepsis® V ที่สามารถกำจัดเชื้อที่อยู่ในเนื้อฟันได้ทั้งหมดในทุกระดับความลึกจากผนังคลองรากฟัน อาจเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของสารประกอบ $AgNO_3$ 4,700 ppm นั้นต่ำเกินไปหรือระยะเวลา 7 วันที่ใส่สารในคลองรากฟันนั้นน้อยเกินไป จึงไม่สามารถกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ได้ทั้งหมดซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Wan-Hong Lan[22] ที่พบว่าความเข้มข้นของสาร ammoniacal silver nitrate 100 ppm สามารถกำจัดเชื้อ *E. faecalis* ในคลองรากฟันได้มากกว่า 10^8 CFU/ml เมื่อสัมผัสกับสารเป็นเวลา 10 นาที เช่นเดียวกับการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ *C. albicans* ที่พบว่าหลังจากใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน ทุกกลุ่มการทดลองสามารถลดเชื้อที่อยู่ในเนื้อฟันในทุกระดับความลึกจากผนังคลองรากฟัน 0.1-0.3 มิลลิเมตรได้ ยกเว้นกลุ่มที่ใส่สารทดสอบ P407 และกลุ่ม Control ซึ่งพบว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อ *C. albicans* ได้เลยในทุกระดับความลึกจากผนังคลองรากฟัน โดยกลุ่มทดลองที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *C. albicans* ได้มากที่สุดในการทดลองนี้คือกลุ่ม Consepsis® V และกลุ่ม MP+$AgNO_3$ ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อในทุกระดับความลึกของเนื้อฟันรองลงมาคือ P407+$AgNO_3$และ MP ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่ากลุ่มทดสอบที่มี

$AgNO_3$ ผสมอยู่ด้วยจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *C. albicans* ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดสอบที่ใส่เฉพาะตัวนำส่งสารในคลองรากฟัน แสดงว่า $AgNO_3$ ที่ใช้ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *C. albicans* ได้เช่นเดียวกับ *E. faecalis* โดยในกลุ่ม MP+ $AgNO_3$ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อในทุกระดับความลึกของเนื้อฟันแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของตัวนำส่งสาร MP รวมกับความเข้มข้นของ $AgNO_3$ 200 ppm ที่ใช้ในการศึกษานี้มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดเชื้อ *C. albicans* ในทุกระดับความลึกของเนื้อฟันได้เช่นเดียวกับกลุ่ม Consepsis®V

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพตัวนำส่งสารระหว่าง MP กับ P407 พบว่า MP ซึ่งประกอบด้วย macrogol หรือ polyethelene glycol ผสมกับ propylene glycol นั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวนำส่งสารกลุ่ม P407 และกลุ่ม Control สอดคล้องกับการศึกษาของ Nalawade และคณะ[60] ที่ศึกษาประสิทธิภาพของตัวนำส่งสาร 5 ชนิด ได้แก่ popylene glycol, glycerine, polyethelene glycol 400, polyethelene glycol 1000 และ popylene glycol ผสมกับ polyethelene glycol 400 ในการต้านเชื้อ 4 สายพันธุ์พบว่า polyethelene glycol 1000 มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมาคือ propylene glycol แต่เมื่อนำ polyethelene glycol ผสมรวมกับ propylene glycol กลับพบว่าไม่ได้เสริมฤทธิ์ในการต้านเชื้อ ดังนั้นคุณสมบัติในการต้านเชื้อของตัวนำส่งสาร MP จากการศึกษานี้ เกิดจากคุณสมบัติของ polyethelene glycol หรือ macrogol และ propylene glycol ที่ไม่ได้เสริมฤทธิ์กัน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Carreira และคณะ[77] ที่ศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อในคลองรากฟันโดยใช้วิธี agar dilution methodพบว่า polyethylene glycol มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ นอกจากนั้นกลุ่มทดสอบ MP+$AgNO_3$และ MP มีความสามารถในการกำจัดเชื้อทั้ง *E. faecalis* และ *C. albicans* ในระดับที่ลึกจากผนังคลองรากฟันมากกว่ากลุ่มทดสอบ P407+$AgNO_3$แสดงให้เห็นว่ากลุ่มทดสอบ MP+$AgNO_3$และ MP สามารถแทรกซึมเข้าไปในระดับที่ลึกจากผนังคลองรากฟันได้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Cruz และคณะ ที่ศึกษาการแทรกซึมของ propylene glycol ผ่านท่อเนื้อฟันโดยใช้สเปกโตโฟโตเมตรี (spectrophotometry) พบว่า propylene glycol มีความสามารถแทรกซึมผ่านท่อเนื้อฟันได้[67] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Parasuraman[25] พบว่า propylene glycol มีประสิทธิภาพในการนำสารผ่านท่อเนื้อฟันได้ และการศึกษาของ Phides และคณะ[78] ที่ศึกษาการซึมผ่านของ macrogol ผสมกับ propylene glycol ผ่านวัสดุอุดคลองรากฟันภายหลังการอุดคลองรากฟันแล้ว พบว่า propylene glycol มีความสามารถในการนำส่งสารผ่านท่อเนื้อฟันและวัสดุอุดคลองรากฟันได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

จากผลการศึกษาการคงฤทธิ์ของกลุ่มการทดสอบ ไม่พบการคงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ในทุกกลุ่มการทดสอบที่ใส่สารไว้ในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน ยกเว้นกลุ่ม Consepsis®V ที่พบการคงฤทธิ์ของสารตลอดระยะเวลา 14 วัน ที่ทำการศึกษา สอดคล้องกับการศึกษาของ Komorowski และคณะ[14] ที่ทำการศึกษาในฟันวัว และแนะนำให้ใส่สารคลอร์เฮ็กซิดีนในคลองรากฟันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 7 วัน เพื่อให้สารมีความสามารถในการคงฤทธิ์ได้ตลอดระยะเวลา 21 วัน ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของสาร $AgNO_3$ ที่ใช้ต่ำเกินไปหรือระยะเวลาที่เนื้อฟันสัมผัสกับสารไม่เพียงพอต่อการคงฤทธิ์อยู่ หรืออาจเพราะสาร $AgNO_3$ ไม่มีฤทธิ์ในการคงอยู่ของสารในเนื้อฟันภายหลังล้างสารออกจากคลองรากฟัน

ภายใต้ข้อจำกัดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้จึงอาจสรุปได้ว่าสารประกอบ $AgNO_3$ สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้เป็นสารใส่ในคลองรากฟันเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ได้ โดยตัวนำส่งสาร MP ผสมกับสารประกอบ $AgNO_3$ ความเข้มข้น 200 ppm ตามที่ศึกษาในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C. albicans* ในคลองรากฟันได้ไม่แตกต่างกับ Consepsis®V สำหรับประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E. faecalis* อาจต้องทำการศึกษาต่อเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร $AgNO_3$ ในการต้านเชื้อ ส่วนการศึกษาความสามารถในการคงฤทธิ์ของสารทดสอบ ไม่พบความสามารถในการคงฤทธิ์ของสารในเนื้อฟันของทุกกลุ่มทดสอบที่ทำการศึกษา ยกเว้นกลุ่ม Consepsis®V ซึ่งหากต้องการศึกษาการคงฤทธิ์ของสารเพิ่มเติมอาจทำการศึกษาโดยใช้ SEM ศึกษาในการทดลองครั้งต่อไป

อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาในห้องปฏิบัติการและในแบบจำลองฟันมนุษย์เท่านั้น ดังนั้นหากต้องการจะพัฒนาเพื่อนำไปใช้งานจริง จำเป็นจะต้องทำการศึกษาในทางคลินิกต่อไป

บทที่ 5

บทสรุป และข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า

1. ความสามารถของสารประกอบซิลเวอร์ทั้ง 3 ชนิด คือ Ag-Complex, Ag_2O และ $AgNO_3$ ผสมกับตัวนำส่งสาร MP และ P407 พบว่าสารประกอบซิลเวอร์ ที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ในสภาวะเจริญอยู่แบบเดี่ยวได้ดีที่สุดคือ $AgNO_3$, Ag_2O และ Ag-Complex ตามลำดับ

2. ความสามารถในการต้านเชื้อ *E. faecalis* ในแบบจำลองฟันมนุษย์เมื่อทำการใส่สารไว้ในคลองรากฟัน 7 วัน พบว่าสาร Consepsis®V, MP+$AgNO_3$, P407+$AgNO_3$และ MP มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* ได้สูงกว่ากลุ่ม P407 และกลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ความสามารถในการต้านเชื้อ *C. albicans* ในแบบจำลองฟันมนุษย์เมื่อทำการใส่สารไว้ในคลองรากฟัน 7 วัน สาร Consepsis®V, MP+$AgNO_3$, P407+$AgNO_3$ และ MP มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. albicans* ได้สูงกว่ากลุ่ม P407 และกลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. ความสามารถในการต้านเชื้อ *C. albicans*ในแบบจำลองฟันมนุษย์เมื่อทำการใส่สารไว้ในคลองรากฟัน 7 วันของสาร MP+$AgNO_3$ กับ Consepsis®V ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5. เมื่อใส่สารในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน พบว่า Consepsis®V มีความสามารถในการคงฤทธิ์ตลอดระยะเวลา 14 วันในขณะที่กลุ่มอื่นๆ ไม่พบการคงฤทธิ์ของสารทดสอบ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบซิลเวอร์ 3 ชนิด ในการต้านเชื้อจุลชีพโดยผลที่ได้คือสารประกอบ $AgNO_3$มีประสิทธิภาพดีที่สุด จึงถูกนำมาศึกษาต่อในแบบจำลองฟันของมนุษย์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบ $AgNO_3$ ผสมกับตัวนำส่งสาร MP และ P407 เปรียบเทียบกับ Concepsis®V (2% คลอร์เฮ็กซิดีน) โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *E. faecalis* และ *C. albicans* ซึ่งแตกต่างจากสภาวะเชื้อในช่องปากจริงที่มีการอยู่อาศัยของเชื้อภายในคลองรากฟันที่หลากหลายอีกทั้งในการทดลองนี้

เลือกใช้ฟันที่มีคลองรากฟันเดียวและถูกตัดนำมาใช้เฉพาะส่วนกลางรากทำให้แตกต่างจากฟันในช่องปากที่มีลักษณะกายวิภาคซับซ้อนมากกว่าดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อและการปลดปล่อยของสารจึงอาจจะไม่สามารถจำลองสภาพตามลักษณะความเป็นจริงได้ทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวก็สามารถนำผลที่ได้มาเป็นพื้นฐานในการปรับปรุงเพื่อพัฒนาใช้ต่อในอนาคตได้

ดังนั้นในการนำไปใช้จริงควรจะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับคุณสมบัติและการคงตัวของสารในคลองรากฟัน รวมถึงประสิทธิภาพที่ได้เมื่อใช้งานในทางคลินิกจริง

เอกสารอ้างอิง

1. Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. ***J Endod*** 2006 Feb; 32(2):93–8.
2. Gijo J, Surya K, Bala KR. *Enterococcus faecalis*, a nightmare to endodontist: A systematic review. ***Afr J Microbiol Res*** 2015 Apr; 9(13):898–908.
3. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. ***J Endod*** 2002 Oct; 28(10):689–93.
4. Kumar J, Sharma R, Sharma M, Prabhavathi V, Paul J, Chowdary CD. Presence of *Candida albicans* in root canals of teeth with apical periodontitis and evaluation of their possible role in failure of endodontic treatment. ***J Int Oral Health JIOH*** 2015 Feb; 7(2):42–5.
5. Ashraf H, Samiee M, Eslami G, Ghodse HMR. Presence of *Candida albicans* in root canal system of teeth requiring endodontic retreatment with and without periapical lesions. ***Iran Endod J*** 2007; 2(1):24–8.
6. Weckwerth PH, Carnietto C, Weckwerth ACVB, Duarte MAH, Kuga MC, Vivan RR. In vitro susceptibility of oral *Candida albicans* strains to different pH levels and calcium hydroxide saturated aqueous solution. ***Braz Dent J*** 2012; 23(3):192–8.
7. Doyon GE, Dumsha T, von Fraunhofer JA. Fracture resistance of human root dentin exposed to intracanal calcium hydroxide. ***J Endod*** 2005 Dec; 31(12):895–7.
8. Caio CRF, Brenda Gomes, Alexandre AZ, Fabrício BT, Francisco JSF. 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.
9. Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. ***Int Endod J*** 1999 Mar; 32(2):99–102.
10. McDonnell G and Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. ***Clin Microbiol Rev*** 1999 Jan; 12(1):147–79.
11. Tereza A. Dell Vedove Semenoff, Alex Semenoff-Segundo, Alvaro Henrique Borges, Fabio Miranda Luiz Pedro, Leonado Stephan Caporossi, Aurelio Rosa-Junior. Antimicrobial activity of 2% chlohexidine gluconate, 1% sodium hypochlorite and paramonochlorophenol

combined with furacin against *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalise* and *P. aureginosa*. 2010; 25:174–7.

12. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. ***Aust Dent J*** 2007 Mar; 52(1):64-82.
13. Mohammadi Z. Chlorhexidine gluconate, its properties and applications in endodontics. ***Iran Endod J*** 2008; 2(4):113–25.
14. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. ***J Endod*** 2000 Jun; 26(6):315–7.
15. Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. ***J Endod*** 2007 Aug; 33(8):966–9.
16. Souza M, Cecchin D, Barbizam JVB, Almeida JFA, Zaia AA, Gomes BPFA. Evaluation of the colour change in enamel and dentine promoted by the interaction between 2% chlorhexidine and auxiliary chemical solutions. ***Aust Endod J J Aust Soc Endodontology Inc*** 2013 Dec; 39(3):107–11.
17. Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. ***J Endod*** 2008 Feb; 34(2):181–5.
18. Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC. Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. ***Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*** 1991 Feb; 29(2):119–24.
19. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. ***Trends Biotechnol*** 2010 Nov; 28(11):580–8.
20. Stebbins EA. What value has argenti nitras as a therapeutic agent in dentistry. ***int dent J*** 1891; 12:661–70.
21. Grossman LI. Endodontic Practice. Philadelphia: Lea and Febiger; 1970.
22. Wan-Hong Lan. Efficacy of ammoniacal silver nitrate in root canal therapy. ***Tokyo Med Dent Univ*** 1977; 24:169–76.
23. Chong BS and Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. ***Int Endod J*** 1992 Mar; 25(2):97–106.

24. Niu G, Du F, Song L, Zhang H, Yang J, Cao H. Synthesis and characterization of reactive poloxamer 407s for biomedical applications. ***J Controlled Release*** 2009 Aug; 138(1):49–56.

25. Parasuraman VR and Muljibhai BS. 3Mix- MP in Endodontics – An overview. ***J Dent Med Sci*** 2012; 3(1):36–45.

26. Takushige T, Cruz EV, Asgor MA, Hoshino E. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. ***Int Endod J*** 2004 Feb; 37(2):132–8.

27. Takushige T and Hoshino E. Clinical evaluation of 3Mix-MP method in endodontic treatment. ***Jap J Conserv Dent*** 1998; 41:970–4.

28. รวีเถียรไพศาล. แบคทีเรียและโรคติดเชื้อ ที่พบบ่อยในช่องปาก. พิมพ์ครั้งที่หนึ่งสงขลา: ไอคิว มีเดีย สงขลา; 2552

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

30. Zehnder M and Guggenheim B. The mysterious appearance of *Enterococci* in filled root canals. ***Int Endod J*** 2009 Apr; 42(4):277–87.

31. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. ***Oral Microbiol Immunol*** 2003 Aug; 18(4):234–9.

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

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

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

35. Ashraf H, Samiee M, Eslami G, Ghodse HMR. Presence of *Candida albicans* in root canal system of teeth requiring endodontic retreatment with and without periapical lesions. ***Iran Endod*** J 2007; 2(1):24–8.

36. Kovac J, Kovac D, Slobodnikova L, Kotulova D. *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in the dental root canal and periapical infections. ***Bratisl Lek Listy*** 2013; 114(12):716–20.

37. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. ***Endod Dent Traumatol*** 1995 Feb; 11(1):6–9.

38. 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 Sep; 34(6):424–8.

39. Waltimo TM, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. ***Int Endod J*** 1999 Mar; 32(2):94–8.

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

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

42. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intracanal agents. ***Aust Endod J J Aust Soc Endodontology Inc*** 2006 Dec; 32(3):112–5.

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

44. Leonardo MR, Tanomaru FM, Silva LA, Nelson FP, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. ***J Endod*** 1999 Mar; 25(3):167–71.

45. Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. ***J Endod*** 2008 Feb; 34(2):181–5.

46. Chen X and Schluesener HJ. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. ***Toxicol Lett*** 2008 Jan; 176(1):1–12.

47. Mirsattari SM, Sharpe MD, Young GB. Treatment of refractory status epilepticus with inhalational anesthetic agents isoflurane and desflurane. ***Arch Neurol*** 2004 Aug; 61(8):1254–9.

48. Li B, Liu X, Meng F, Chang J, Ding C. Preparation and antibacterial properties of plasma sprayed nano-titania/silver coatings. ***Mater Chem Phys*** 2009 Nov; 118(1):99–104.

49. ฌปภาเอี่ยมจิรกุล, ปิยะนารถเอกวรพจน์, ฐิติวัลคุ์พูลนวม. อนุภาคนาโนเงินในงานทันตกรรม. ***วทันต มศว*** 2013; 1:77–86.

50. Suzuki K and Ishihara I. Atlas of Endodontics. Tokyo: Ishiyaku-shuppan; 1972.

51. Yamaga R, Nishino M, Yoshida S, Yokomizo I. Diammine silver fluoride and its clinical application. ***J Osaka Univ Dent Sch*** 1972 Sep; 12:1–20.

52. Rosenblatt A, Stamford TCM, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries “silverfluoride bullet”. ***J Dent Res*** 2009 Feb; 88(2):116–25.

53. Rowe RC SP and Weller PJ. Handbook of Phamaceutical excipient2003. 2003.

54. Bochot A, Fattal E, Grossiord JL, Puisieux F, Couvreur P. Characterization of a new ocular delivery system based on a dispersion of liposomes in a thermosensitive gel. ***Int J Pharm*** 1998 Mar; 162(1–2):119–27.

55. Ricci EJ, Bentley MVLB, Farah M, Bretas RES, Marchetti JM. Rheological characterization of poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. ***Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci*** 2002 Nov; 17(3):161–7.

56. Paavola A, Kilpeläinen I, Yliruusi J, Rosenberg P. Controlled release injectable liposomal gel of ibuprofen for epidural analgesia. ***Int J Pharm*** 2000 Apr; 199(1):85–93.

57. Wannachaiyasit S and Phaechamud T. Development of chlorhexidine thermosensitive gels as a mouth antiseptic. 2010; 20:165–8.

58. Hadi IA, Ugriné HE, Farouk AM, Shayoub M. Formulation of polyethylene glycol ointment bases suitable for tropical and subtropical climates I. ***Acta Pharm Hung*** 1989 May; 59(3):137–42.

59. Ugriné HE, Hadi IA, Kassem MA, Farouk AM, Selmeczi B. Formulation of polyethylene glycol ointment bases suitable for tropical and subtropical climates II. ***Acta Pharm Hung*** 1989 Jul; 59(4):157–65.

60. Nalawade T, Sogi SP, Bhat K. Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400 and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. ***J Int Soc Prev Community Dent*** 2015; 5(2):114.

61. Thomas PA, Bhat KS, Kotian KM. Antibacterial properties of dilute formocresol and eugenol and propylene glycol. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol*** 1980 Feb; 49(2):166–70.

62. Morshed KM, Nagpaul JP, Majumdar S, Amma MKP. Kinetics of propylene glycol elimination and metabolism in rat. ***Biochem Med Metab Biol*** 1988 Feb; 39(1):90–7.

63. Bhat KS and Walkevar S. Evaluation of bactericidal property of propylene glycol for its possible use in endodontics. ***Arogya J Health Sci*** 1975; 1:54–9.

64. Olitzky I. Antimicrobial properties of a propylene glycol based topical therapeutic agent. ***J Pharm Sci*** 1965 May; 54(5):787–8.

65. Laws A.Calcium hydroxide as a possible root filling following partial pulpotomy. ***N Z Dent J*** 1962; 58:199–215.

66. Shahani DR and Rupali. An evaluation of the pH changes of calcium hydroxide using three vehicles in endodontic therapy an in vitro study. ***Endodontology*** 1992; 4(2):5–10.

67. Cruz EV, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E. Penetration of propylene glycol into dentine. ***Int Endod*** J 2002 Apr; 35(4):330–6.

68. Fava LR and Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. ***Int Endod J*** 1999 Aug; 32(4):257–82.

69. Haapasalo M and Orstavik D. In vitro infection of dentinal Tubules. ***J Dent Res*** 1987 Aug; 66(8):1375–9.

70. Vaghela D, Venkateshbabu N, Arathi G, Kandaswamy D, Jamini N. Disinfection of dentinal tubules with two different formulations of calcium hydroxide as compared to 2% chlorhexidine: as intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: an in vitro study. ***J Conserv Dent*** 2011; 14(2):182.

71. Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, Castillo F, Rodríguez AA, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrimide. ***J Endod*** 2012 Jul; 38(7):927–30.

72. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. ***Braz Dent J*** 2002; 13:155–61.

73. Ng YL, Mann V, Gulabivala K. A prospective study of the factors affecting outcomes of nonsurgical root canal treatment part 1: periapical health. ***Int Endod J*** 2011; 44:583–609.

74. Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Kristiansen S, Phipps R, Nielsen AK, Jensen PØ. Silver against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. ***APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*** 2017 Aug; 115(8):921–8.

75. Zander HA and Burrill DY. The penetration of silver nitrate solution into dentin. ***J Dent Res*** 1943; 22:85–9.

76. Zander H and Smith H. Penetration of silver nitrate into dentin II. ***J Dent Res*** 1945; 24:121–8.

77. Carreira C de M, Santos SSF, Jorge AOC, Lage-Marques JL. Antimicrobial effect of intracanal substances. ***J Appl Oral Sci Rev FOB*** 2007 Oct; 15(5):453–8.

78. Phides NP and Hoshino E. Evaluation of obturation by image analyses and macrogol and propylene glycol penetration. ***J LSTR Ther*** 2008; 7:6–10.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์
อาคาร 1 ชั้น 5 ห้อง 504
โทรศัพท์. 074-287533, 074-287504

คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
15 ถนนกาญจนวณิชย์
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

หนังสือฉบับนี้ให้ไว้เพื่อรับรองว่า

โครงการวิจัยเรื่อง การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อและการคงฤทธิ์อยู่ของสารประกอบซิลเวอร์ในโพลอกซาเมอร์ 407 เจล และในมาโครกอลผสมโพรพิลีนไกลคอลสำหรับใช้ในคลองรากฟัน

รหัสโครงการ EC6106-25-P-LR

หัวหน้าโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์

สังกัด ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์ คณะทันตแพทยศาสตร์

ผู้ร่วมวิจัย ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล / ทันตแพทย์หญิงนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

เอกสารที่รับรอง:

- ☑ แบบเสนอโครงการวิจัย
- ☑ โครงร่างการวิจัย
- ☑ ใบเชิญชวน
- ☑ ใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา

ได้ผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย (Research Ethics Committee) ซึ่งเป็นคณะกรรมการพิจารณาศึกษาการวิจัยในคนของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines และ the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

บรรจุในวาระการประชุมครั้งที่ 8/2561 **วาระที่** 3.2.4 **วันที่** 30 สิงหาคม 2561

ขอให้ผู้วิจัยรายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัย ทุก ๆ 12 เดือน และยื่นต่ออายุก่อนถึงวันหมดอายุอย่างน้อย 30 วัน (กรณีโครงการวิจัยเข้าข่าย Exemption Determination ไม่ต้องรายงานความก้าวหน้าต่อคณะกรรมการจริยธรรม แต่ขอให้รายงานสรุปโครงการวิจัยเมื่อสิ้นสุดโครงการ)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.ทพ.สุรพงษ์ วงศ์วัชรานนท์)
ปฏิบัติการแทน ประธานคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย

วันที่รับรอง : 16 สิงหาคม 2561

วันหมดอายุ : 15 สิงหาคม 2562

RESEARCH ETHICS COMMITTEE (REC)
BUILDING 1 5TH FLOOR ROOM 504
TEL. 66-74-287533, 66-74-287504
FAX. 66-74-287533

FACULTY OF DENTISTRY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY
HADYAI, SONGKHLA 90112, THAILAND
TEL. 66-74-212914, 66-74-429871, 66-74-287500
FAX. 66-74-429871, 66-74-212922

Documentary Proof of Ethical Clearance
Research Ethics Committee (REC)
Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University

The Project Entitled	:	Comparison of Antimicrobial Activity and Substantivity of Silver Compounds in Poloxamer 407 Gel and in Macrogol Mixed with Propylene Glycol as an Intracanal Medicament
REC Project No.	:	EC6106-25-P-LR
Principal Investigator	:	Asst.Prof.Dr.Kewalin Thammasitboon
Affiliation	:	Department of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, PSU
Co-Principal Investigator	:	Prof.Dr.Rawee Teanpaisan / Miss Nipapen Kanput

Approved Documents :

- ☑ Submission Form
- ☑ Research Proposal
- ☑ Informed Consent
- ☑ Consent Form

Approved by Research Ethics Committee (REC), Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University.

This is to certify that REC is in full compliance with International Guidelines for Human Research Protection such as the Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

This review is documented in the meeting minutes of the meeting 8/2018
Agenda 3.2.4 **on** 30 AUGUST 2018

Please submit the Progress Report every 12 months. (Renewal must be submitted at least 30 days prior to expired date.)

(For Exemption Determination, Please submit a Final Report after study completion)

Surapong Vongvatcharanon

(Asst.Prof.Dr.Surapong Vongvatcharanon)
Acting of Behalf Chairman of Research Ethics Committee

Date of Approval : 16 AUGUST 2018
Date of Expiration : 15 AUGUST 2019

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง MP ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.76600*	.12378	.000	.4358	1.0962
	3	1.01000*	.12378	.000	.6798	1.3402
2	1	-.76600*	.12378	.000	-1.0962	-.4358
	3	.24400	.12378	.162	-.0862	.5742
3	1	-1.01000*	.12378	.000	-1.3402	-.6798
	2	-.24400	.12378	.162	-.5742	.0862

ตารางที่ 2 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง MP + Ag ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.82800*	.13547	.000	.4666	1.1894
	3	1.05800*	.13547	.000	.6966	1.4194
2	1	-.82800*	.13547	.000	-1.1894	-.4666
	3	.23000	.13547	.246	-.1314	.5914
3	1	-1.05800*	.13547	.000	-1.4194	-.6966
	2	-.23000	.13547	.246	-.5914	.1314

ตารางที่ 3 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง P407 ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.86000*	.10415	.000	.5821	1.1379
	3	.96400*	.10415	.000	.6861	1.2419
2	1	-.86000*	.10415	.000	-1.1379	-.5821
	3	.10400	.10415	.592	-.1739	.3819
3	1	-.96400*	.10415	.000	-1.2419	-.6861
	2	-.10400	.10415	.592	-.3819	.1739

ตารางที่ 4 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง P407+ Ag ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.77600*	.08743	.000	.5427	1.0093
	3	.96600*	.08743	.000	.7327	1.1993
2	1	-.77600*	.08743	.000	-1.0093	-.5427
	3	.19000	.08743	.117	-.0433	.4233
3	1	-.96600*	.08743	.000	-1.1993	-.7327
	2	-.19000	.08743	.117	-.4233	.0433

ตารางที่ 5 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง Control ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.83667*	.03300	.000	.7354	.9379
	3	.93667*	.03300	.000	.8354	1.0379
2	1	-.83667*	.03300	.000	-.9379	-.7354
	3	.10000	.03300	.052	-.0012	.2012
3	1	-.93667*	.03300	.000	-1.0379	-.8354
	2	-.10000	.03300	.052	-.2012	.0012

ตารางที่ 6 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง MP ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.83600*	.10043	.000	.5681	1.1039
	3	1.04400*	.10043	.000	.7761	1.3119
2	1	-.83600*	.10043	.000	-1.1039	-.5681
	3	.20800	.10043	.138	-.0599	.4759
3	1	-1.04400*	.10043	.000	-1.3119	-.7761
	2	-.20800	.10043	.138	-.4759	.0599

ตารางที่ 7 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง P407 ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.05200*	.14050	.000	.6772	1.4268
	3	1.27600*	.14050	.000	.9012	1.6508
2	1	-1.05200*	.14050	.000	-1.4268	-.6772
	3	.22400	.14050	.285	-.1508	.5988
3	1	-1.27600*	.14050	.000	-1.6508	-.9012
	2	-.22400	.14050	.285	-.5988	.1508

ตารางที่ 8 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง P407 + Ag ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.56000*	.10531	.000	.2790	.8410
	3	.78400*	.10531	.000	.5030	1.0650
2	1	-.56000*	.10531	.000	-.8410	-.2790
	3	.22400	.10531	.126	-.0570	.5050
3	1	-.78400*	.10531	.000	-1.0650	-.5030
	2	-.22400	.10531	.126	-.5050	.0570

ตารางที่ 9 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชั้นเนื้อฟันในกลุ่มทดลอง Control ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) ชั้น	(J) ชั้น	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.04333*	.09518	.000	.7513	1.3354
	3	1.22333*	.09518	.000	.9313	1.5154
2	1	-1.04333*	.09518	.000	-1.3354	-.7513
	3	.18000	.09518	.221	-.1120	.4720
3	1	-1.22333*	.09518	.000	-1.5154	-.9313
	2	-.18000	.09518	.221	-.4720	.1120

ตารางที่ 10 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.1 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

					95% Confidence Interval	
(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
MP	MP+Ag	2.05600*	.10426	.000	1.7407	2.3713
	P407	-.63600*	.10426	.000	-.9513	-.3207
	P407+Ag	.43000*	.10426	.005	.1147	.7453
	Control	-.67733*	.12039	.000	-1.0414	-.3133
MP+Ag	MP	-2.05600*	.10426	.000	-2.3713	-1.7407
	P407	-2.69200*	.10426	.000	-3.0073	-2.3767
	P407+Ag	-1.62600*	.10426	.000	-1.9413	-1.3107
	Control	-2.73333*	.12039	.000	-3.0974	-2.3693
P407	MP	.63600*	.10426	.000	.3207	.9513
	MP+Ag	2.69200*	.10426	.000	2.3767	3.0073
	P407+Ag	1.06600*	.10426	.000	.7507	1.3813
	Control	-.04133	.12039	.997	-.4054	.3227
P407+Ag	MP	-.43000*	.10426	.005	-.7453	-.1147
	MP+Ag	1.62600*	.10426	.000	1.3107	1.9413
	P407	-1.06600*	.10426	.000	-1.3813	-.7507
	Control	-1.10733*	.12039	.000	-1.4714	-.7433
Control	MP	.67733*	.12039	.000	.3133	1.0414
	MP+Ag	2.73333*	.12039	.000	2.3693	3.0974
	P407	.04133	.12039	.997	-.3227	.4054
	P407+Ag	1.10733*	.12039	.000	.7433	1.4714

ตารางที่ 11 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.2 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MP	MP+Ag	2.11800*	.11209	.000	1.7791	2.4569
	P407	-.54200*	.11209	.001	-.8809	-.2031
	P407+Ag	.44000*	.11209	.008	.1011	.7789
	Control	-.56000*	.12943	.003	-.9514	-.1686
MP+Ag	MP	-2.11800*	.11209	.000	-2.4569	-1.7791
	P407	-2.66000*	.11209	.000	-2.9989	-2.3211
	P407+Ag	-1.67800*	.11209	.000	-2.0169	-1.3391
	Control	-2.67800*	.12943	.000	-3.0694	-2.2866
P407	MP	.54200*	.11209	.001	.2031	.8809
	MP+Ag	2.66000*	.11209	.000	2.3211	2.9989
	P407+Ag	.98200*	.11209	.000	.6431	1.3209
	Control	-.01800	.12943	1.000	-.4094	.3734
P407+Ag	MP	-.44000*	.11209	.008	-.7789	-.1011
	MP+Ag	1.67800*	.11209	.000	1.3391	2.0169
	P407	-.98200*	.11209	.000	-1.3209	-.6431
	Control	-1.00000*	.12943	.000	-1.3914	-.6086
Control	MP	.56000*	.12943	.003	.1686	.9514
	MP+Ag	2.67800*	.12943	.000	2.2866	3.0694
	P407	.01800	.12943	1.000	-.3734	.4094
	P407+Ag	1.00000*	.12943	.000	.6086	1.3914

ตารางที่ 12 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.3 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *E.F.*

					95% Confidence Interval	
(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
MP	MP+Ag	2.10400*	.10730	.000	1.7796	2.4284
	P407	-.68200*	.10730	.000	-1.0064	-.3576
	P407+Ag	.38600*	.10730	.015	.0616	.7104
	Control	-.74400*	.12390	.000	-1.1186	-.3694
MP+Ag	MP	-2.10400*	.10730	.000	-2.4284	-1.7796
	P407	-2.78600*	.10730	.000	-3.1104	-2.4616
	P407+Ag	-1.71800*	.10730	.000	-2.0424	-1.3936
	Control	-2.84800*	.12390	.000	-3.2226	-2.4734
P407	MP	.68200*	.10730	.000	.3576	1.0064
	MP+Ag	2.78600*	.10730	.000	2.4616	3.1104
	P407+Ag	1.06800*	.10730	.000	.7436	1.3924
	Control	-.06200	.12390	.986	-.4366	.3126
P407+Ag	MP	-.38600*	.10730	.015	-.7104	-.0616
	MP+Ag	1.71800*	.10730	.000	1.3936	2.0424
	P407	-1.06800*	.10730	.000	-1.3924	-.7436
	Control	-1.13000*	.12390	.000	-1.5046	-.7554
Control	MP	.74400*	.12390	.000	.3694	1.1186
	MP+Ag	2.84800*	.12390	.000	2.4734	3.2226
	P407	.06200	.12390	.986	-.3126	.4366
	P407+Ag	1.13000*	.12390	.000	.7554	1.5046

ตารางที่ 13 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.1 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MP	P407	-.81800*	.12593	.000	-1.1840	-.4520
	P407+Ag	.64400*	.12593	.001	.2780	1.0100
	Control	-.86600*	.14541	.000	-1.2886	-.4434
P407	MP	.81800*	.12593	.000	.4520	1.1840
	P407+Ag	1.46200*	.12593	.000	1.0960	1.8280
	Control	-.04800	.14541	.987	-.4706	.3746
P407+Ag	MP	-.64400*	.12593	.001	-1.0100	-.2780
	P407	-1.46200*	.12593	.000	-1.8280	-1.0960
	Control	-1.51000*	.14541	.000	-1.9326	-1.0874
Control	MP	.86600*	.14541	.000	.4434	1.2886
	P407	.04800	.14541	.987	-.3746	.4706
	P407+Ag	1.51000*	.14541	.000	1.0874	1.9326

ตารางที่ 14 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.2 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MP	P407	-.60200*	.11155	.000	-.9262	-.2778
	P407+Ag	.36800*	.11155	.024	.0438	.6922
	Control	-.65867*	.12881	.001	-1.0331	-.2843
P407	MP	.60200*	.11155	.000	.2778	.9262
	P407+Ag	.97000*	.11155	.000	.6458	1.2942
	Control	-.05667	.12881	.970	-.4311	.3177
P407+	MP	-.36800*	.11155	.024	-.6922	-.0438
Ag	P407	-.97000*	.11155	.000	-1.2942	-.6458
	Control	-1.02667*	.12881	.000	-1.4011	-.6523
Control	MP	.65867*	.12881	.001	.2843	1.0331
	P407	.05667	.12881	.970	-.3177	.4311
	P407+Ag	1.02667*	.12881	.000	.6523	1.4011

ตารางที่ 15 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองที่เนื้อฟันระดับ 0.3 mm ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C.A.*

					95% Confidence Interval	
(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
MP	P407	-.58600*	.09539	.000	-.8633	-.3087
	P407+Ag	.38400*	.09539	.006	.1067	.6613
	Control	-.68667*	.11015	.000	-1.0068	-.3665
P407	MP	.58600*	.09539	.000	.3087	.8633
	P407+Ag	.97000*	.09539	.000	.6927	1.2473
	Control	-.10067	.11015	.798	-.4208	.2195
P407+Ag	MP	-.38400*	.09539	.006	-.6613	-.1067
	P407	-.97000*	.09539	.000	-1.2473	-.6927
	Control	-1.07067*	.11015	.000	-1.3908	-.7505
Control	MP	.68667*	.11015	.000	.3665	1.0068
	P407	.10067	.11015	.798	-.2195	.4208
	P407+Ag	1.07067*	.11015	.000	.7505	1.3908

ตารางที่ 16 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง วันที่ 2 หลังใส่เชื้อในการศึกษาประสิทธิภาพในการคงฤทธิ์ของสาร *E.F.*

(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MP	MP+Ag	-.00600	.03727	1.000	-.1187	.1067
	P407	-.02000	.03727	.982	-.1327	.0927
	P407+Ag	-.02600	.03727	.954	-.1387	.0867
	Control	-.03933	.04304	.888	-.1695	.0908
MP+Ag	MP	.00600	.03727	1.000	-.1067	.1187
	P407	-.01400	.03727	.995	-.1267	.0987
	P407+Ag	-.02000	.03727	.982	-.1327	.0927
	Control	-.03333	.04304	.935	-.1635	.0968
P407	MP	.02000	.03727	.982	-.0927	.1327
	MP+Ag	.01400	.03727	.995	-.0987	.1267
	P407+Ag	-.00600	.03727	1.000	-.1187	.1067
	Control	-.01933	.04304	.991	-.1495	.1108
P407+Ag	MP	.02600	.03727	.954	-.0867	.1387
	MP+Ag	.02000	.03727	.982	-.0927	.1327
	P407	.00600	.03727	1.000	-.1067	.1187
	Control	-.01333	.04304	.998	-.1435	.1168
Control	MP	.03933	.04304	.888	-.0908	.1695
	MP+Ag	.03333	.04304	.935	-.0968	.1635
	P407	.01933	.04304	.991	-.1108	.1495
	P407+Ag	.01333	.04304	.998	-.1168	.1435

ตารางที่ 17 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง วันที่ 2 หลังใส่เชื้อในการศึกษาประสิทธิภาพในการคงฤทธิ์ของสาร *C.A.*

(I) สาร	(J) สาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MP	MP+Ag	.03000	.03772	.929	-.0841	.1441
	P407	-.01600	.03772	.993	-.1301	.0981
	P407+Ag	-.00400	.03772	1.000	-.1181	.1101
	control	-.08867	.04356	.289	-.2204	.0430
MP+Ag	MP	-.03000	.03772	.929	-.1441	.0841
	P407	-.04600	.03772	.741	-.1601	.0681
	P407+Ag	-.03400	.03772	.893	-.1481	.0801
	control	-.11867	.04356	.089	-.2504	.0130
P407	MP	.01600	.03772	.993	-.0981	.1301
	MP+Ag	.04600	.03772	.741	-.0681	.1601
	P407+Ag	.01200	.03772	.998	-.1021	.1261
	control	-.07267	.04356	.476	-.2044	.0590
P407+Ag	MP	.00400	.03772	1.000	-.1101	.1181
	MP+Ag	.03400	.03772	.893	-.0801	.1481
	P407	-.01200	.03772	.998	-.1261	.1021
	control	-.08467	.04356	.331	-.2164	.0470
control	MP	.08867	.04356	.289	-.0430	.2204
	MP+Ag	.11867	.04356	.089	-.0130	.2504
	P407	.07267	.04356	.476	-.0590	.2044
	P407+Ag	.08467	.04356	.331	-.0470	.2164

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนิภาเพ็ญ แก่นพุฒ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5810820015

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2555

ทุนการศึกษา(ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาภายในประเทศ โรงพยาบาลหนองสองห้อง จ. ขอนแก่น ปีการศึกษา 2558-2561

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ทันตแพทย์ชำนาญการ กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลหนองสองห้อง จ. ขอนแก่น

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

นิภาเพ็ญ แก่นพุฒ, เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์, รวี เถียรไพศาล การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อของสารซิลเวอร์ไนเตรทในตัวนำส่งสารชนิดต่างๆ สำหรับใช้ในคลองรากฟันโดยใช้แบบจำลองฟันมนุษย์. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 14 “วิถีนวัตกรรมเพื่อการพัฒนางานวิจัยสู่เศรษฐกิจชุมชนไทยให้ยั่งยืน; วันที่ 27-28 เมษายน 2562; ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น. ปทุมธานี, ประเทศไทย; 2562: 29-38