บทที่ 4

บทวิจารณ์

ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูง และไม่สามารถให้ความร่วมมือในการดูแลรักษาสุขภาพช่องปาก เช่น เด็กเล็ก เด็กพิเศษ จำเป็นจะต้องมีวิธีการในการป้องกันฟันผุที่ง่าย โดยไม่จำเป็นต้องอาศัยความร่วมมือของผู้ป่วยมาก และไม่ต้องใช้ความถี่ในการพบทันตแพทย์ที่สูง คลอร์เฮ็กซิดีนเป็นสารต้านจุลชีพตัวหนึ่งที่นำมาใช้ในการป้องกันฟันผุในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูง รูปแบบของคลอร์เฮ็กซิดีนที่นำมาใช้เช่น น้ำยาอมบ้วนปาก เจล และ วานิช ซึ่งคลอร์เฮ็กซิดีนในรูปแบบวานิช มีผลต่อการลดลงของ *S. mutans* อย่างมีประสิทธิภาพและยาวนานกว่าการใช้น้ำยาอมบ้วนปาก และ เจล (Schaeken and Haan, 1989; Pienihakkinen *et al*., 1995; Le and Schaeken, 1993; Schaeken *et al*., 1989) คลอร์เฮ็กซิดีนในรูปแบบวานิชที่มีผลิตจำหน่ายมีด้วยกัน 3 ชนิด คือ Chlorzoin®, EC 40® และ Cervitec® โดยในประเทศไทยมีการนำเข้าเพื่อจำหน่ายเพียง 1 ชนิด คือ Cervitec® ซึ่งมีส่วนประกอบของคลอร์เฮ็กซิดีนร้อยละ 1 และต้องใช้ซ้ำทุก 3 เดือนโดยทันตแพทย์เป็นผู้ทาให้ แต่ EC 40® มีส่วนประกอบของคลอร์เฮ็กซิดีนร้อยละ 40 มีองค์ประกอบพื้นฐานหลักคือ แซนดาแรคที่สามารถเก็บคลอร์เฮ็กซิดีนปริมาณสูงอยู่ได้ และค่อยๆปล่อยออกมาทีละน้อยทำให้ผลในการฆ่าเชื้ออยู่ได้นานจึงใช้ซ้ำทุก 6 เดือน แต่ไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย ดังนั้นการศึกษานี้จึงเตรียมคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรค วานิชที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ และมีความปลอดภัยในการนำไปใช้ เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ในการป้องกันฟันผุในกลุ่มผู้ป่วยข้างต้น

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองนอกร่างกาย (in vitro study) สภาวะที่ใช้ในการศึกษาการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนได้พยายามเลียนแบบสภาวะในช่องปาก โดยเปลี่ยนน้ำทุก 1 ชั่วโมง ซึ่งจากการศึกษาการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนที่ผ่านมาช่วงเวลาที่น้อยที่สุดที่เก็บตัวอย่างคือ 1 ชั่วโมง (Balanyk and Sandham, 1985; Schaeken *et al*., 1989; Schaeken *et al*., 1991) ในขณะที่ในช่องปากมีการไหลเวียนของน้ำลายตลอดเวลา และใช้ปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาใน 1 ชั่วโมง (อัตราการปลดปล่อยสูงสุด) ในการพิจารณาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* และความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ซึ่งความเข้มข้นของคลอร์

เฮ็กซิดีนในช่วงระยะเวลาดังกล่าวอาจจะมากกว่าความเป็นจริงที่เกิดในช่องปากที่มีการไหลเวียนของน้ำลายตลอดเวลาก็ได้

การศึกษานี้ได้ควบคุมปริมาณวานิช, พื้นที่ของชิ้นตัวอย่าง และ น้ำหนักของวานิชหลังจากทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แต่ด้วยความหนืดของวานิชที่แตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้น ทำให้วานิชที่หนืดมากว่ามีพื้นที่ผิว และน้ำหนักของวานิชหลังจากทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องมากกว่าวานิชที่มีความหนืดน้อยกว่า ดังนั้นจึงไม่สามารถควบคุมให้ทุกความเข้มข้นมีพื้นที่ผิว และน้ำหนักเท่ากันรวมทั้งก่อนเริ่มการศึกษาไม่ได้ทำการตรวจหาปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีน ทำให้ไม่ทราบปริมาณของคลอร์เฮ็กซิดีนที่แท้จริง ดังนั้นปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่ตรวจวัดได้จากแต่ละตัวอย่างในวานิชความเข้มข้นเดียวกันจึงมีความแตกต่างกัน

จากการเตรียมกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการหาความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาสำหรับคลอร์เฮ็กซิดีนแต่ละความเข้มข้น ซึ่งแต่ละกราฟจะได้จากการวัดห่างกัน 1 สัปดาห์โดยเตรียมใหม่ทุกครั้ง พบว่าค่า relative standard error เมื่อเทียบกับ regression model ของทุกครั้งมีค่าที่ต่ำ ดังนั้นการตรวจวัดหาความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนในครั้งนี้น่าจะมี reproducebility โดยกราฟที่ได้จากช่วงคลอร์เฮ็กซิดีนที่มีความเข้มข้นสูงจะมีค่า relative standard error เมื่อเทียบกับ regression model ที่ต่ำกว่า ดังนั้นที่ความเข้มข้นสูงกราฟมาตรฐานสามารถให้การตรวจวัดความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนได้แม่นยำกว่า

เมื่อพิจารณาค่าสถิติที่ได้จากการวิเคราะห์สมการการถดถอยจากปริมาณการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสะสมใน 24 ชั่วโมงดังภาพประกอบ 12-15 โดยแบบจำลองการปลดปล่อยที่มีจลศาสตร์อันดับที่ 1 และการปลดปล่อยแบบอิ่มตัวตามสมการ $y = a*(1 – \exp(- b*x))$ a คือ ปริมาณการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนที่ระยะเวลาอนันต์ (ความสูงของกราฟ) b คือ ค่าคงที่ของอัตราการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีน พบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่เตรียมขึ้นทุกความเข้มข้น ยกเว้นคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 5 มีค่าคงที่ของอัตราการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนใกล้เคียงกันดังแสดงในตาราง 13 ดังนั้นคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่เตรียมขึ้นทุกความเข้มข้นมีจลศาสตร์ของการปลดปล่อยรูปแบบเดียวกัน ต่างกันตรงที่ระดับของคลอร์เฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยมาในเวลาอนันต์มีระดับของยาที่แตกต่างกันเพราะปริมาณยาในวานิช (drug loading level) ต่างกันโดยปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยออกมาจากคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 มากกว่า 20, 10 และ 5 ตามลำดับ จะเห็นว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่มีความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนมากกว่าจะมีการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีน ออกมามากกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่มีความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนน้อยกว่า เช่นเดียวกับ

การศึกษาของ Shaeken และคณะในปี 1991 ที่ศึกษาการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีน จากคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 25, 30 และ 40 พบว่าปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยออกมาจากคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 มากกว่า 30 และ 25 ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนขึ้นกับความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนที่อยู่ในวานิช

อย่างไรก็ตามรูปแบบของสมการที่สร้างขึ้นของทุกความเข้มข้นอาจไม่ใช้รูปแบบที่เหมาะสมที่สุด แต่ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการเปรียบเทียบจึงสร้างรูปแบบของสมการรูปแบบเดียวกัน ซึ่งหากต้องการศึกษาในรายละเอียดการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนในวานิชของแต่ละความเข้มข้นจะต้องหารูปแบบที่เหมาะสมที่สุดต่อไป

ตาราง 13 ค่าสถิติที่ได้จากการวิเคราะห์สมการการถดถอยจากปริมาณการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสะสมใน 24 ชั่วโมง ด้วยสมการ $y = a*(1 – \exp(- b*x))$ ของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชที่เตรียมขึ้นเอง

คลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิช ความเข้มข้นร้อยละ	ค่าสถิติ		
	a(SE)	b(SE)	R^2
5	16.32 (0.45)	0.32 (0.02)	0.9827
10	215.22 (9.69)	0.19 (0.02)	0.9861
20	764.94 (64.98)	0.17 (0.03)	0.9489
40	4937.18 (501.58)	0.21 (0.04)	0.9280

ในการศึกษาตอนที่ 2 พบว่าการปลดปล่อยของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิช ความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 ที่เตรียมขึ้นเองแตกต่างกับ EC 40® คือมีอัตราการปลดปล่อยสูงสุดเกิดขึ้นช้ากว่า และอัตราการปลดปล่อยที่ 12 ชั่วโมงยังไม่ลดลง แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนของ EC 40® ยาวนานกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิช ความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 ที่เตรียมขึ้นเอง อาจเนื่องจาก EC 40® มีส่วนประกอบอื่นที่ใส่ไปมากกว่าส่วนประกอบหลักทั้ง 3 เพื่อให้มีความหน่วงในการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีน และวิธีการในการเตรียมวานิชที่แตกต่างกัน

ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 ที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ 1.50 และ 3.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Balanyk และ Samdham ในปี 1985 ซึ่งได้ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *S. mutans* JC2 เท่ากับ 0.39 – 1.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.56 – 3.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำอัตราการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ออกมาจากวานิชเปรียบเทียบกับค่า MIC และ MBC พบว่าปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 สูงกว่าค่า MIC และ MBC และผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นไปในทำนองเดียวกันเมื่อนำตัวอย่างคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากแต่ละความเข้มข้นทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S.mutans* ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาวงใสที่เกิดขึ้นจากคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นสูงสุดของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 (17.5 มิลลิเมตร) และ 40 (22.5 มิลลิเมตร) ดังตาราง 6 เปรียบเทียบกับวงใสที่เกิดจากคลอร์เฮ็กซิดีนมาตรฐาน ดังตาราง 5 พบว่าวงใสที่เกิดจากปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดมีเส้นผ่านศูนย์กลางที่มากกว่าวงใสที่เกิดจากคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้น 4.72 และ 28.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตาราง 5) เนื่องจากในตัวอย่างสารละลายคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมามีส่วนของแซนดาแรคซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตต่อเชื้อด้วย เนื่องจากคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 0 (แซนดาแรควานิช) เกิดวงใสที่มีขอบเขตไม่ชัดเจน แต่คลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 20 และ 40 มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ของวงใสที่มากกว่าและขอบเขตชัดเจนกว่า เส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดจากคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชแต่ละความเข้มข้นในตาราง 7 และภาพประกอบ 24 ดังนั้นวงใสของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 เกิดจากผลของคลอร์เฮ็กซิดีน และแซนดาแรควานิช แต่วงใสที่เกิดขึ้นไม่ได้มาจากระยะเส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดจากคลอร์เฮ็กซิดีนบวกกับระยะเส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดจากแซนดาแรควานิช แสดงให้เห็นว่าวงใสที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากแซนดาแรควานิช และสารคลอร์เฮ็กซิดีนร่วมกันแบบ synergistic ดังนั้นคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโดยคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* มากกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 ซึ่งเป็นผลมาจากแซนดาแรควานิชและคลอร์เฮ็กซิดีนร่วมกัน

เมื่อนำค่าอัตราการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ออกมาจากวานิชแต่ละความเข้มข้น คำนวณหาระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสจากสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนมาตรฐานกับเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส $Y = 0.4854X + 9.2981$, $R^2 = 0.9891$ ดังแสดงในผลการศึกษา พบว่าระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้จากสมการใกล้เคียงกับระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้จากผลการทดลองในตาราง 5 มีเพียงคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 เท่านั้นที่ได้วงใสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลที่ได้จากการทดลองที่ $\alpha = 0.05$ ดังตาราง 14 ดังนั้นการแทรกซึม (diffusion) ของยาในเนื้อวุ้นค่อนข้างมีความสม่ำเสมอ (consistency) ในทุกๆความเข้มข้น

ตาราง 14 ระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้จากสมการ $Y = 0.4854X + 9.2981$ และระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้จากผลการทดลอง

คลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรควานิช ความเข้มข้นร้อยละ	คลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมา (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ระยะเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)	
		จากผลการทดลอง	จากสมการถดถอย
5	0.10	0(8.0)	9.3
10	0.75	9.5	9.7
20	4.72	17.5	11.6*
40	28.79	22.5	23.3

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลที่ได้จากการทดลองที่ ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อพิจารณาปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่ปลดปล่อยออกมาในช่วงหลังที่มีอัตราการปลดปล่อยคงที่ของทุกความเข้มข้นดังภาพประกอบ 28 พบว่าการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนจากคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 (2.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ 40 (3.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงกว่า MIC ซึ่งทำให้ทั้งสองความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อต่อไปได้หลังจากที่เชื้อถูกฆ่าจากผลของปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาในช่วงแรก แต่ EC 40® ได้ทำการทดลองเพียง 12 ชั่วโมงซึ่งอัตราการปลดปล่อยยังไม่คงที่

หากต้องการทราบว่าช่วงที่มีการปลดปล่อยคงที่แล้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อต่อไปได้หรือไม่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มโดยทำการศึกษามากกว่า 12 ชั่วโมง

อย่างไรก็ตามจากการเก็บตัวอย่างการปลดปล่อยเพียง 12 ชั่วโมงจะเห็นว่า EC 40® ปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนได้ยาวนานกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 ที่เตรียมขึ้นเอง แม้ว่าอัตราปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดจะต่ำกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรคความเข้มข้นร้อยละ 40 ก็ตาม แต่ปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนดังกล่าวสูงกว่าค่า MBC มากพอที่จะฆ่าเชื้อ *S. mutans* ได้ และที่12 ชั่วโมง EC 40® ปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนสูงกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรคความเข้มข้นร้อยละ 40 และการปลดปล่อยยังคงเป็นไปอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น EC 40® มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *S. mutans* ได้ดี และยาวนานกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรคที่เตรียมขึ้นเอง

เมื่อทำการศึกษาความเป็นพิษพบว่าปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาจากคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 และ EC 40®สูงกว่าความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนที่ทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ Balb/C 3T3 มีชีวิตร้อยละ 50 ในขณะที่วานิชชนิดอื่นๆมีค่าต่ำกว่า ดังนั้นคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชทุกความเข้มข้นมีความเป็นพิษน้อยกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 และ EC 40® ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบความเป็นพิษด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชชนิดต่าง ๆ พบว่า ทุกชนิดมีร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แต่คลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 และ EC 40® มีร้อยละการมีชีวิตที่ต่ำ ซึ่งผลในการศึกษาความเป็นพิษในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ เซลล์จะสัมผัสกับคลอร์เฮ็กซิดีนในแซนดาแรควานิชนาน 24 ชั่วโมง โดยไม่ได้เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ดังนั้นเซลล์จะได้รับปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนเป็นปริมาณที่สูงซึ่งมากกว่าปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดในแต่ละชั่วโมง แต่การศึกษาในส่วนนี้ไม่ได้วัดปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาสะสมใน 24 ชั่วโมงที่มีผลต่อเซลล์ ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้อาจจะไม่เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นจริงในการใช้ในช่องปากเนื่องจากในช่องปากมีน้ำลายที่ไหลเวียนชะล้างสารต่างๆตลอดเวลา การศึกษาในห้องปฏิบัติการมักพบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนมีความเป็นพิษสูงแต่เมื่อทดสอบในสิ่งมีชีวิตกลับไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เนื่องจากร่างกายมีเยื่อบุผิว (epithelium barrier) ที่จะสามารถป้องกันอันตรายที่จะเกิดต่อเซลล์ในชั้นล่าง (Lindhe *et al*., 1970) และซีรัม (serum) สามารถป้องกันความเป็นพิษของคลอร์เฮ็กซิดีน (Helgeland *et al*., 1971) แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาสามารถนำมาเปรียบเทียบความเป็นพิษของคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชแต่ละความเข้มข้น โดยแสดงให้เห็นว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 และ EC 40® มีความเป็นพิษมากกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นอื่นๆ นอกจากนั้นพบว่าแซนดาแรคเป็น

เบสที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และเซลล์ยังสามารถเติบโตได้ดีบนแซนดาแรคเนื่องจากมีร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่มากกว่ากลุ่มควบคุมและบนชิ้นตัวอย่างมีเซลล์ที่มีชีวิตติดสีของ MTT

ในประเทศไทยมีการศึกษาคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชขึ้นเอง โดย Chidchuangchai และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* KPSK2 ของคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 5-40, ฟลูออไรด์วานิชความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Fluor Protector®, Ivoclar Vivadent), ฟลูออไรด์วานิชความเข้มข้นร้อยละ 2.26 (Duraphat®, Colgate Oral Pharmaceuticals) และ Cervitec® ในห้องปฏิบัติการ พบว่าวานิชทุกชนิดมีผลต่อ *S. mutans* ยกเว้น ฟลูออไรด์วานิชความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans* KPSK2 ซึ่งศึกษาด้วยวิธี agar diffusion เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ แต่แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans* ATCC 25175 อย่างมีนัยสำคัญ แต่คลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 เท่านั้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans* ATCC 25175 เนื่องจากการศึกษานี้ดูวงใสที่เกิดจากการใช้ตัวอย่างคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาจากคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชแต่ละความเข้มข้น และนำปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาจากวานิชนั้นเปรียบเทียบกับค่า MIC และ MBC ร่วมด้วย และพบว่า คลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 เท่านั้นที่ปลดปล่อยปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans* ATCC 25175 อย่างมีนัยสำคัญและสูงกว่า MIC และ MBC แต่การศึกษาข้างต้นศึกษาโดยใช้ตัวอย่างคลอร์เฮ็กซิดีนวานิชโดยตรง ซึ่งการใช้คลอร์เฮ็กซิดีนวานิชโดยตรงมีปริมาณคลอร์เฮ็กซิดีนที่สัมผัสวุ้นได้มากกว่าตัวอย่างคลอร์เฮ็กซิดีนสูงสุดที่ปลดปล่อยออกมาทำให้คลอร์เฮ็กซิดีนวานิชความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ในการ ศึกษาข้างต้นสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้

จากการศึกษานี้จะเห็นว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20, 40 ที่เตรียมขึ้นเอง และ EC 40® มีความสามารถปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* แต่ EC 40® มีความเป็นพิษที่สูงกว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 40 และ 20 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในต่างประเทศได้มีการนำ EC 40® มาใช้ในมนุษย์และแสดงให้เห็นว่า EC 40® มีความปลอดภัยในการใช้ แม้จะเกิดแผลระคายเคืองที่เยื่อบุช่องปากและรสขม แต่อาการเหล่านั้นหายไปใน 2-3 วันหลังจากใช้ พบอาการดังกล่าวในผู้ป่วย 5 คนจาก 12 คน (Attin, *et al*. 2003) ซึ่งสอดคล้องกับผลความเป็นพิษของ EC 40® ที่มีผลต่อเซลล์แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในการใช้จะต้องระมัดระวังไม่ให้สัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อในช่องปากขณะยังไม่แห้ง ซึ่งตรงกับคำแนะนำในการใช้ EC 40®

ผลจากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 40 ที่ตรียมขึ้นเอง มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* ไม่แตกต่างจาก EC 40® แต่รูปแบบในการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนของวานิชที่เตรียมเองเร็วกว่า และระยะเวลาที่ระดับปริมาณของคลอร์เฮ็กซิดีนจะยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* สั้นกว่า ดังนั้นน่าจะมีการพัฒนาคลอร์เฮ็กซิดีนแซนดาแรควานิชให้มีความหน่วงในการปลดปล่อยคลอร์เฮ็กซิดีนมากขึ้น และมีระยะเวลาที่ระดับปริมาณของคลอร์เฮ็กซิดีนจะยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* ที่ยาวนานขึ้น โดยความเข้มข้นของคลอร์เฮ็กซิดีนอยู่ในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 20 - 40 เพื่อให้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อ *S. mutans* ที่สูงกว่าความเข้มข้นร้อยละ 20 และมีความเป็นพิษที่น้อยกว่าความเข้มข้นร้อยละ 40 รวมทั้งหาสารที่หาได้ง่ายในพื้นที่เพื่อเป็นเบสในการเตรียมวานิชที่สามารถเก็บคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นสูงอยู่และค่อยๆปลดปล่อยออกมาได้ เนื่องจากแซนดาแรคที่ใช้ในการเตรียมวานิชในการศึกษานี้ไม่สามารถหาได้ในประเทศไทย และทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ เช่น ความหนืด การดูดซึมน้ำ ของสารนั้นก่อนนำไปทำการศึกษาในสิ่งมีชีวิตต่อไป