

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีน

วันทนา ลีลาสงวน ท.บ.*

ลีลาวดี แสงสุก วท.ม.**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีน ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบบ่อยในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อ

รูปแบบการวิจัย: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มตัวอย่าง: เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจำนวน 4 ชนิด และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจำนวน 3 ชนิด รวมทั้งหมดเป็น 7 ชนิดๆ ละ 20 ตัวอย่าง

วิธีดำเนินการวิจัย: ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 7 ชนิด บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดละ 20 จาน ทำการแบ่งจานอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 10 จาน กลุ่มที่ 1 ใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นลงในหลุมที่เจาะไว้ตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ กลุ่มที่ 2 ใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนกลูโคเนท 2% จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจนขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด เมื่อครบ 7 วัน นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดมาวัดขอบเขตของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด และนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ

ตัววัดที่สำคัญ: ขอบเขตของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

ผลการวิจัย: พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด ดีกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) โดยเชื้อแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งได้มากที่สุดเรียงตามลำดับ ได้แก่ *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และ *Enterococcus faecalis*

สรุป: การศึกษาวิจัยนี้พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสมควรมีการพัฒนาชนิดนี้สำหรับใส่ในคลองรากฟันเพื่อเพิ่มผลสำเร็จของการรักษาคอนกรูเมนต์ต่อไป

* กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลตากสิน กรุงเทพมหานคร

** สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

Abstract**A Comparison of Antimicrobial Effect between Calcium Hydroxide: Distilled Water Paste and Calcium Hydroxide: Chlorhexidine Paste**

Wantana Leelasanguan DDS*
 Leelaowadee Sangsuk MSc**

* Dental Section, Taksin Hospital

** National Institute of Health, Department of Medical Science

Objective: To compare the antimicrobial effect between calcium hydroxide: distilled water paste and calcium hydroxide: chlorhexidine paste on common pathogenic bacteria in root canal infection.

Study design: Experimental study.

Subjects: Anaerobic bacteria 4 species and facultative anaerobic bacteria 3 species were selected.

Methods: Each bacterium was cultivated on 20 sterile agar plates which had a 7 mm. hole in the central. These agar plates were equally divided into 2 groups. Calcium hydroxide: distilled water paste was assigned for the first group and calcium hydroxide: chlorhexidine paste in the second group. Then, all agar plates were incubated at designated temperature. The inhibition zone was measured and analyzed.

Main outcome measures: The distance of inhibited zone.

Results: The antimicrobial effect on seven different bacteria of Calcium hydroxide: chlorhexidine paste was better than calcium hydroxide: distilled water paste significantly. The effect was more on *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* and *Enterococcus faecalis* respectively.

Conclusion: Calcium hydroxide: chlorhexidine paste was more effective than calcium hydroxide: distilled water paste for eradicating these bacteria. Then, anti-infective medication should be developed from this combination.

Key words: calcium hydroxide: chlorhexidine paste, antimicrobial effect

บทนำ

เชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อใน (dental pulp) และเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน (periapical tissue)¹ ดังนั้นการทำความสะอาดและการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการรักษารากฟัน ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวสามารถทำได้หลายวิธีร่วมกัน ได้แก่ การขยายคลองรากฟัน การล้างคลองรากฟัน

และการใส่ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน จากการศึกษาอัตราความสำเร็จของการรักษารากฟันพบว่าอยู่ระหว่างร้อยละ 53-94² โดยคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อใน (necrotic pulp) และมีรอยโรครอบๆ ปลายรากฟัน (rarefied area) จะมีผลสำเร็จของการรักษารากฟันน้อยกว่าฟันที่ไม่มีการติดเชื้อ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลสำเร็จของการรักษารากฟันมีความสัมพันธ์กับเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน³

การติดเชื้อในคลองรากฟันเกิดจากเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด (polymicrobial infection) เชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (anaerobic bacteria) ซึ่งพบว่ามีหลายชนิดรวมอยู่ด้วยกัน ได้แก่ กลุ่ม Black-pigmented anaerobic bacteria (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ฯลฯ) *Peptostreptococci*, *Fusobacterium* และ *Eubacterium* species เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้จะส่งเสริมกันทำให้เกิดอาการของโรคที่รุนแรงขึ้น^{4,5} นอกจากนี้ในพื้นที่ลึกลับจากการรักษารากฟันยังสามารถพบเชื้อแบคทีเรียที่สามารถมีชีวิตได้ในสภาวะที่มีอาหารน้อยและถูกปิดล้อมโดยวัสดุอุด เชื้อแบคทีเรียประเภทนี้มีปริมาณแตกต่างกัน ที่พบมาก ได้แก่ *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Peptococcus* และ *Actinomyces* species โดยมีปริมาณของ *Enterococcus* species มากที่สุด⁶ การติดเชื้อในคลองรากฟันเป็นเวลานานจะทำให้เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตตลอดทั่วระบบคลองรากฟัน รวมทั้งส่วนคลองรากที่มีการแตกแขนงซับซ้อน (ramification) และท่อเนื้อฟัน (dentinal tubules) ซึ่งตำแหน่งเหล่านี้ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมดจากการขยายคลองรากฟันอย่างเดียว การใส่ยาในคลองรากฟันจึงเป็นสิ่งสำคัญ⁷⁻⁹ แต่ขณะเดียวกันฤทธิ์ของยาอาจไปทำลายหรือทำลายความระคายเคืองกับเนื้อเยื่อปลายรากได้¹⁰ ดังนั้นยาที่ใช้จึงควรมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อที่ดีและไม่ทำลายเนื้อเยื่อปลายรากฟัน

แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) เป็นสารระงับเชื้อ (antiseptic) ที่ถูกนำมาใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน โดย Hermann¹¹ ตั้งแต่ปี 1930 โดยการทำ direct pulp capping บทบาทสำคัญของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการรักษารากฟันคือ การฆ่าเชื้อ (bactericidal effect)¹² กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (hard tissue formation)¹³ ละลายเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (pulp tissue solution)¹⁴ รวมทั้งสามารถยับยั้งการละลายของรากฟัน (root resorption)¹⁵ คุณสมบัติที่ดีเหล่านี้ทำให้นิยมนำเอาแคลเซียมไฮดรอกไซด์มาใช้อย่างกว้างขวางในการรักษารากฟัน

คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นผลมาจากฤทธิ์ความเป็นด่างที่สูง เมื่อผสมกับน้ำจะแตกตัวให้ไฮดรอกซิลไอออน (hydroxyl ion) จำนวนมาก ไฮดรอกซิลไอออนจะไปจับกับไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดขบวนการ lipid peroxidative ซึ่งจะเพิ่มการซึมผ่านของผนังเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างที่เป็นโปรตีน ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

(enzyme) และมีการทำลายดีเอ็นเอ (DNA) มีผลทำให้แบคทีเรียตาย¹⁶ นอกจากนี้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ยังทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจำเป็นกับการดำรงชีพของเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพทำให้จำนวนเชื้อแบคทีเรียลดลง¹⁷ อย่างไรก็ตามแม้ว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะสามารถฆ่าเชื้อได้เกือบทุกชนิด⁹ และถูกนำไปใส่ในคลองรากฟันกันอย่างกว้างขวาง แต่พบว่ายังไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้ โดยเฉพาะ *Enterococcus faecalis* ซึ่งพบมากในพื้นที่ลึกลับหลังจากการรักษาคลองรากฟัน¹⁸⁻²¹

กลอเฮกซิดีน กลูโคนาต (chlorhexidine gluconate) เป็นสารระงับเชื้อ อีกชนิดหนึ่งที่ใช้กันมากในทางทันตกรรม โดยถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ตั้งแต่ปี 1950 ได้แก่ น้ำยาบ้วนปาก ยาสีฟัน และหมากฝรั่ง เนื่องจากมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อที่ดี กลอเฮกซิดีนจะออกฤทธิ์โดยจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียทำให้ส่วนประกอบภายในเซลล์รั่วออกไปภายนอกเซลล์²² กลอเฮกซิดีนที่ความเข้มข้นต่ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic effect) ส่วนที่ความเข้มข้นสูง โปรตีนภายในเซลล์ของแบคทีเรียจะจับตัวกัน มีผลให้เกิดการแตกของไซโทพลาซึม (cytoplasm) จึงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย²³ และยังมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ด้วย^{24,25}

จากคุณสมบัติที่ดีของแคลเซียมไฮดรอกไซด์และกลอเฮกซิดีน จึงมีแนวความคิดที่จะผสมแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับกลอเฮกซิดีนเข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อในคลองรากฟัน ซึ่งในปัจจุบันงานวิจัยที่ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลอเฮกซิดีน ทั้งที่มีผลต่อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพยังมีอยู่น้อยมาก ดังนั้นในการทำวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลอเฮกซิดีน กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการพัฒนาเป็นยาสำหรับใส่ในคลองรากฟันต่อไป

ประชากรตัวอย่างและวิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มตัวอย่าง

เชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในคลองรากฟันจำนวน 2 กลุ่ม

รวมทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่

1. เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (anaerobic bacteria) จำนวน 4 ชนิด คือ *Porphyromonas gingivalis* (DMST 21360), *Porphyromonas endodontalis* (clinical isolate), *Actinomyces viscosus* (DMST 18777) และ *Actinomyces israelii* (DMST 22246)

2. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (facultative anaerobic bacteria) จำนวน 3 ชนิด คือ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175T), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

ขนาดตัวอย่าง

เชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด ชนิดละ 20 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 140 ตัวอย่าง

นิยามตัวแปร

1. แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น หมายถึง ผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1.0 กรัม : 0.7 มิลลิลิตร มีลักษณะเป็นครีม

2. แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลูโคส หมายถึง ผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลูโคส 2% ในอัตราส่วน 1.0 กรัม : 0.7 มิลลิลิตร มีลักษณะเป็นครีม

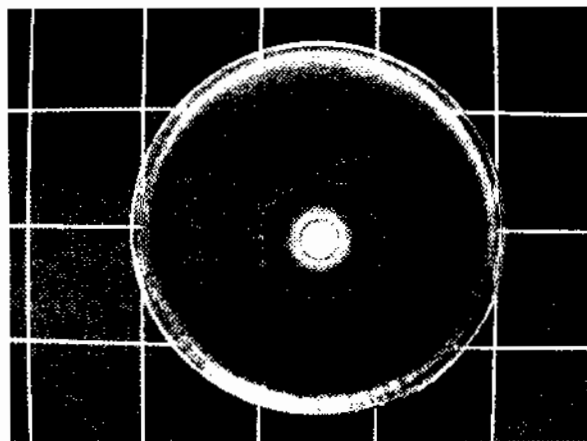
3. ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ประเมินจากการวัดขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (inhibition zone) บริเวณที่ยามีผลฆ่าเชื้อทำให้เชื้อไม่เจริญเติบโตในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะเห็นเป็นวงกลมใสของอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่เห็นกลุ่มของเชื้อ (colony)

วิธีดำเนินการวิจัย

เตรียมเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อบรูเซลลาบรอต (Brucella broth) ความเข้มข้น 0.5 แมกฟาแลนด์ (McFarland) จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 22 จาน ต่อเชื้อ 1 ชนิด มาเจาะรูตรงกลางด้วยแท่งเหล็กทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร เพาะเชื้อชนิดเดียวกัน ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 21 จาน แบ่งจานเพาะเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 จาน โดยจานที่ 21 เป็นจานควบคุมบวก (positive control) และจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหลืออีก 1 จาน และไม่ได้รับการเพาะเชื้อเป็นจานควบคุมลบ (negative control) ทำเช่นนี้กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ จนครบ 7 ชนิด จากนั้น

นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเพาะเชื้อแต่ละชนิดเรียบร้อยแล้ว มาทำการทดลองต่อไป

หยอดแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นที่มีลักษณะเป็นครีม ลงในหลุมที่เจาะไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของกลุ่มที่ 1 จนเต็มทั้ง 10 จาน และหยอดแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลูโคส 2% ที่มีลักษณะเป็นครีม ลงในหลุมที่เจาะไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของกลุ่มที่ 2 จนเต็มทั้ง 10 จาน ทำเช่นนี้กับจานอาหารเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ จนครบทั้ง 7 ชนิด จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปเข้าตู้อบ (incubator) สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (*Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces viscosus* และ *Actinomyces israelii*) ให้เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (*Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*) ให้เพาะเลี้ยงโดยเข้าตู้อบธรรมดาที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดแล้วจึงนำมาวัดขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (ภาพที่ 1) โดยใช้แคลลิเปอร์ส (calipers)



ภาพที่ 1 แสดงขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ซึ่งจะเห็นเป็นวงกลมใสตรงกลางของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่รอบนอกจะแสดงถึงเชื้อที่เห็นโคลนีสืบขึ้น

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติ

ขอบเขตของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเป็นข้อมูลเชิงปริมาณรายงานเป็นค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลาง และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้ Student t-test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่น้อยกว่า 0.05

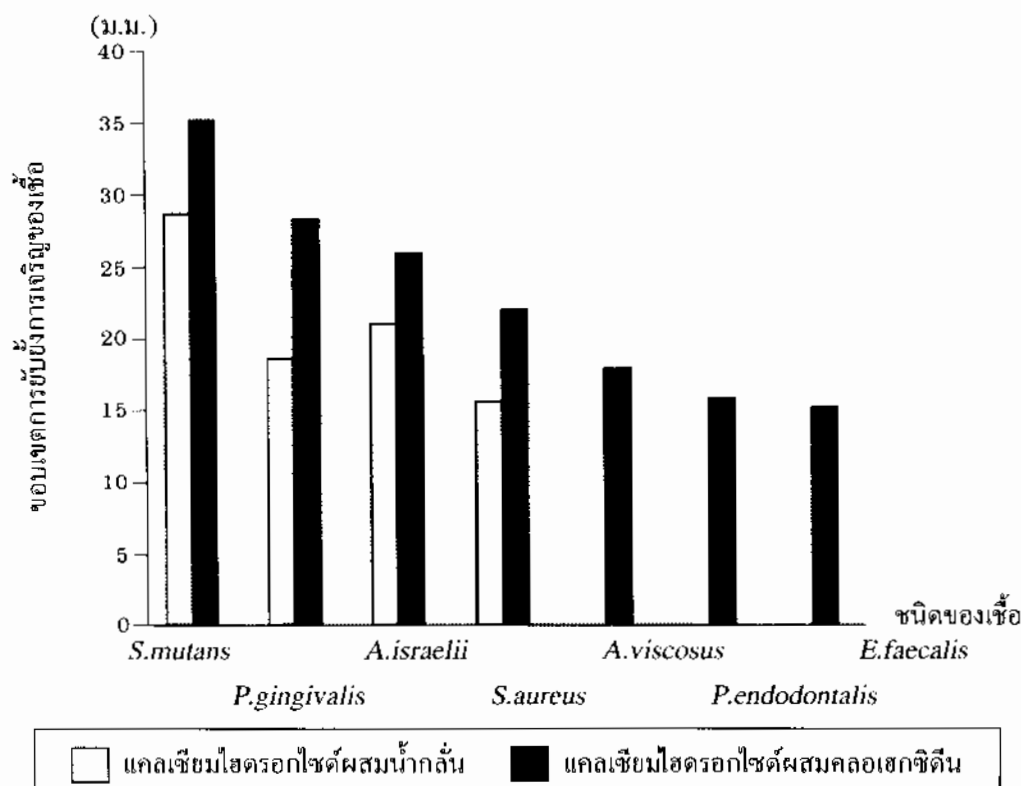
ผลการวิจัย

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนกลูโคเนต 2% โดยวัดขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 7 ชนิด พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนระหว่างเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด พบว่าฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และ *Enterococcus faecalis* ตามลำดับ ในขณะที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ทั้ง 7 ชนิด (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เชื้อแบคทีเรีย	แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น (ม.ม.)	แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีน (ม.ม.)	p-value
<i>Streptococcus mutans</i>	28.95 $\pm$ 0.77	35.51 $\pm$ 0.60	< 0.001
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.74 $\pm$ 0.63	22.17 $\pm$ 0.25	< 0.001
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	0.00 $\pm$ 0.00	15.93 $\pm$ 0.28	< 0.001
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	18.83 $\pm$ 0.47	28.51 $\pm$ 0.49	< 0.001
<i>Actinomyces viscosus</i>	0.00 $\pm$ 0.00	18.04 $\pm$ 0.29	< 0.001
<i>Actinomyces israelii</i>	21.22 $\pm$ 0.31	26.28 $\pm$ 1.11	< 0.001
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.00 $\pm$ 0.00	15.33 $\pm$ 0.42	< 0.001



รูปที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีน ที่มีต่อเชื้อทั้ง 7 ชนิด

Actinomyces israelii, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* ตามลำดับ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และ *Enterococcus faecalis* ดังแสดงรายละเอียดไว้ในรูปที่ 1

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน 2 ชนิด คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีน โดยทำการทดลองกับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นตัวแทนของเชื้อที่พบในคลองรากฟัน 7 ชนิด แบ่งออกเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ 4 ชนิด และแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพอีก 3 ชนิด ซึ่งผลการศึกษางบ่งชี้ว่า แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ทุกชนิด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนระหว่างเชื้อทั้ง 7 ชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยสามารถฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และ *Enterococcus faecalis* ตามลำดับ และถ้าเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นในเชื้อชนิดเดียวกันก็พบว่า แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนสามารถฆ่าเชื้อได้ดีกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนมีมากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นเนื่องมาจากคลอเฮกซิดีนมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อนำไปผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์จึงเสริมฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นกว่าเดิม โดยในการศึกษานี้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนสามารถฆ่าเชื้อ *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และ *Enterococcus faecalis* ในขณะที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นไม่สามารถฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ได้ โดยเฉพาะ *Enterococcus faecalis* ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสำคัญและพบมากในฟันที่ล้มเหลวจากการรักษารากฟัน

แคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ เนื่องจากเชื้อตัวนี้สามารถเจริญอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ถึง 250 ไมครอน (μm)²⁵ ซึ่งไฮดรอกซิลไอออนจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้²⁶ แต่คลอเฮกซิดีน มีคุณสมบัติในการแทรกซึมเข้าไปในท่อเนื้อฟัน²⁵ จึงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ถึงแม้ว่าคลอเฮกซิดีนจะมีคุณสมบัติที่ดีในการฆ่าเชื้อโรคไม่เป็นพิษต่อร่างกาย²⁷ และถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในคลินิกมาเป็นเวลานานแล้ว แต่ก็ไม่นิยมนำคลอเฮกซิดีนเพียงอย่างเดียว ใส่เป็นยาในคลองรากฟัน เนื่องจากคลอเฮกซิดีนจะต้องคงตัวอยู่ในคลองรากฟันนานอย่างน้อย 7 วัน จึงจะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ดี^{28, 32} แต่คลอเฮกซิดีนที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันจะอยู่ในรูปของสารละลายซึ่งจะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อที่สั้น ประกอบกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีคุณสมบัติที่หลายประการ ได้แก่ กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง ละลายเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และสามารถยับยั้งการละลายของรากฟัน ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ไม่มีในคลอเฮกซิดีน ดังนั้นในปัจจุบันจึงยังคงนิยมใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน แต่อาจเสริมฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อด้วยการผสมกับคลอเฮกซิดีน นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมายังพบว่าการผสมคลอเฮกซิดีนลงในแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางกายภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์มีความหนืดมากขึ้น (high viscosity) มีมุมในการสัมผัสกับคลองรากลดลง (lower contact angle) ทำให้ง่ายต่อการใช้งาน ด้วยสามารถสัมผัสกับคลองรากได้ทั่วถึง และมีความคงทนอยู่ในคลองรากได้นานกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่น³³

วิธีการที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการใช้วิธี Agar diffusion method ของ Kirby-Bauer³⁴ โดยขอบเขตของการยับยั้งการเจริญของเชื้อเกิดจากการที่ตัวยาสัมผัสเข้าไปในเนื้อของอาหารเลี้ยงเชื้อและไปสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้งานทางคลินิก โดยทันตแพทย์จะใช้เครื่องมือนำแคลเซียมไฮดรอกไซด์ใส่เข้าไปในคลองรากฟัน โดยให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์สัมผัสกับคลองรากฟันอย่างทั่วถึง จึงจะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ดี แต่อย่างไรก็ตามโครงสร้างของคลองรากฟันมีท่อเนื้อฟันที่แตกแขนงซับซ้อนซึ่งมีความแตกต่างจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อในคลองรากฟันของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมคลอเฮกซิดีนทางคลินิกต่อไป

สรุป

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลอสเอนซิตินมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่เป็นตัวแทนของเชื้อที่พบบ่อยในคลองรากฟันทั้ง 7 ชนิด ดีกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกลอสเอนซิตินระหว่างเชื้อทั้ง 7 ชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยสามารถฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces israelii*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas endodontalis* และฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้น้อยที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุภชัย สุทธิมนชนกุล ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ รองศาสตราจารย์ รัชพน ศรีสังจะลักขณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ทันตแพทย์หญิง วรพรรณ แสงกล้า หัวหน้ากลุ่มงานทันตกรรม และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลตากสิน ทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965; 20: 340-9.
2. Stabholz A. Endodontic failures and retreatment. In: Cohen S, Burn RC, editors. Pathway of the pulp. 3rd ed. St.Louis: CV Mosby; 1994. p.690-727.
3. Grossman LI. Endodontics practice, 10th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1981. p.200.
4. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. Int Endod J 1994; 27: 291-8.
5. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Clinical

- significance of dental root canal microflora. J Dent 1996; 29: 47-55.
6. Pinheiro ET. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J 2003; 36: 1-11.
7. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of efficacy of mechanical instrument in endodontic therapy. Scand J Dent Res 1981; 89: 321-8.
8. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1983; 55: 307-8.
9. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated para monochlorophenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canal. Endod Dent Traumatol 1985; 1: 170-5.
10. Walton R, Torabinejad M. Principles and Practice of Endodontics. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 1996: p.226-30.
11. Hermann BW. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with association pathology. J Br Endod Soc 1975; 8: 74-93.
12. Mutsumiya S, Kitamura M. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine potassium iodide. J Endod 1985; 11: 454-6.
13. Kaiser HL, Anthony FR. The use of calcium hydroxide as a temporary paste fills. Tex Dent J 1981; 99: 6-10.
14. Morgan RW, Carnes DC Jr. Montgomery S. The solvent effects of calcium hydroxide irrigating solution on bovine pulp tissue. J Endod 1991; 17: 165-8.
15. Barclay C. Root resorption. 2-internal root resorption. Dent Update 1993; 20: 292-4.
16. Siqueira JF Jr, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J 1999; 32: 361-9.
17. Kontakiotis E, Nakau M, Cfeorgopoulau M. In vitro Study of the indirect action of calcium

- hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J* 1995; 28: 285-9.
18. Nair R, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesion: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990; 16: 580-8.
 19. Siren EK, Haapasalo MP, Ramta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J* 1997; 30: 91-5.
 20. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjoqren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 86-93.
 21. Handcock HH III, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 579-86.
 22. Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973; 12: 68-75.
 23. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *JADA* 1986; 112: 863-9.
 24. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications an in vitro study. *J Endod* 2002; 28: 163-7.
 25. Basrani B, Tjaderhane L, Santos M. Efficacy of Chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments against *E. faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 618-24.
 26. Fuss Z, Szajkis S, Tagger M. Tubular permeability to calcium hydroxide and to bleaching agents. *J Endod* 1989; 15: 362-4.
 27. Leodardo MR, Tanomaru MF, Silva LAB. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999; 25: 167-71.
 28. Heling j, Steinberg D, Kenig S, Gravitovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of sustained release device containing chlorhexidine and Ca (OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int Endod J* 1992; 25: 20-4.
 29. White RR, Hays GI, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod* 1997; 23:229-31.
 30. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000; 26: 315-7.
 31. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod* 2000; 26: 652-5.
 32. Basrani B, Santos JM, Tjaderhane L. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 240-5.
 33. Basrani B, Ghanem A, Tjaderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide - containing medications. *J Endod* 2004; 30: 413-7.
 34. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turek M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1996; 45: 493-6.