ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะในคลองรากฟัน

พรรณปพร พิริยะโยธิน*, วิบูลย์ ไพศาลกอบฤทธิ์*** กุลนันทน์ ดำรงวุฒิ*** จารุมา ศักดิ์ดี*****

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสของยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินในคลองรากฟันแท้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ: ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวจำนวน 70 ซี่ ได้รับการสุ่มคัดฟัน จำนวน 5 ซี่ เป็นกลุ่มควบคุมลบ ฟันที่เหลือจำนวน 65 ซี่ได้รับการเพาะเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากนาน 21 วัน บันทึกจำนวนโคโลนีฟอร์มมิ่ง-ยูนิตต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) ก่อนและหลังการใส่ยา 14 วัน ฟันที่ติดเชื้อจะได้รับการแบ่งกลุ่มออกเป็นกลุ่มที่ 1 ควบคุมบวก 5 ซี่ กลุ่มที่ 2 ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก 30 ซี่ และกลุ่มที่ 3 ยาออกเมนติน 30 ซี่ เปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ลดลงระหว่างกลุ่มยาด้วยสถิติแมน-วิทนีย์ยู สุ่มฟัน1 ซี่ จากกลุ่มควบคุมหลังการเพาะเชื้อ และฟัน 1 ซี่ จากแต่ละกลุ่มยามาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ผลการศึกษา: ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินสามารถลดปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (p-value = 0.367) ค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (พิสัย: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (พิสัย: 2.56 – 5.91) log CFU/ml

สรุป: ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากฟันและประสิทธิภาพของยาทั้ง 2 ชนิดไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การใช้ออกเมนตินอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับยาที่ใส่ในคลองราก

คำสำคัญ: ออกเมนติน เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก

**นิสิตปริญญาโท, หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาทันตกรรมคลินิก (วิทยาเอ็นโดดอนต์) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

***ร้อยเอกหญิง แผนกทันตกรรม กองแพทย์ สำนักงานสนับสนุนหน่วยบัญชาการทหารพัฒนา กองทัพไทย559 หมู่ 3 ถนนนาวงประชาพัฒนา แขวงสีกัน เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร 10210*

****อาจารย์ ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

Antimicrobial Effects of Antibiotic Paste in Root Canal

Phanpaporn Piriyayothin*, Vibul Paisankobrit*** Kunlanun Dumrongvute*** Jaruma Sakdee*****

Abstract

Objective: This research was to study and compare antimicrobial effect of triple antibiotic and Augmentin® pastes to *Enteroccocus faecalis* in root canals of permanent teeth.

Materials and Methods: Seventy single root lower premolars were selected and five teeth were separated to be sterile control group while the remaining sixty five teeth were inoculated with Enteroccocus faecalis for 21 days. After incubation, colony-forming units (CFU) were recorded before and after 14-day medication. The inoculated teeth were divided randomly into three groups: group1 positive control (n = 5), group 2 triple antibiotic paste (n = 30) and group 3 Augmentin® paste (n = 30). Bacterial reductions were compared between groups of medication using Mann-Whitney U test. One tooth from control group after inoculation and one tooth each from medicated groups were selected randomly to be investigated by scanning electron microscopy.

Results: There were no significant differences of bacterial reductions between triple antibiotic and Augmentin® pastes (p-value = 0.367) which median log10 reduction were 4.86 (Range: 2.42 – 5.79) and 4.92 (Range: 2.56 – 5.91), respectively.

Conclusions: Triple antibiotic and Augmentin® pastes were effective against *Enteroccocus faecalis* and the effect of both medicines are insignificantly different. Augmentin® could potentially be used as an intracanal medication.

Keywords: Augmentin®, *Enteroccocus faecalis, Triple antibiotics*

**Postgraduate student, Master of Science Program in Clinical Dentistry (Endodontics), Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University. 114 Sukhumvit 23 Rd, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*

***Captain, Medical division of General support office, Armed Forces Development Command, Royal Thai Armed Forces, 559 Moo 3 Na Wong Pracha Phatthana Road,Sikan, Don Mueang District, Bangkok 10210, Thailand.*

****Lecturer, Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University. 114 Sukhumvit 23 Rd, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*

บทนำ (Introduction)

การติดเชื้อจุลชีพเป็นสาเหตุหลักของการเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อในของฟัน (dental pulp) ที่สามารถลุกลามนำไปสู่การตายของเนื้อเยื่อในของฟัน (pulp necrosis) และการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากได้ (1) โดยการติดเชื้อในคลองรากแบบปฐมภูมิ (primary root canal infection) เกิดจากการที่จุลชีพหลายสายพันธุ์สร้างชุมชนและเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อในที่ตายแล้ว มีเชื้อกลุ่มไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) เป็นกลุ่มหลัก ร่วมกับเชื้อกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic bacteria) และเชื้อที่ใช้ออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (micro-aerophilic bacteria)(2)

เป้าหมายสำคัญในการรักษาคลองรากคือการกำจัดเชื้อในระบบคลองรากฟันให้มากที่สุดด้วยขั้นตอนการรักษาคลองรากฟันซึ่งประกอบด้วยการเตรียมคลองราก การใส่ยาภายในคลองราก และการอุดคลองรากเพื่อเป็นการป้องกันและรักษาการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน (3) อย่างไรก็ดียังไม่มีวิธีการใดที่สามารถกำจัดเชื้อในระบบคลองรากได้ทั้งหมด ยังสามารถพบเชื้อคงเหลือแทรกตัวอยู่ในท่อเนื้อฟันภายหลังการทำความสะอาด (4) นอกจากนี้อาจพบอุปสรรคในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันที่มีความยุ่งยากซับซ้อน เช่น ฟันที่มีลักษณะคลองรากตีบตันไม่สามารถระบุตำแหน่งของคลองรากฟันแต่พบรอยโรครอบปลายราก ฟันที่มีระบบคลองรากฟันซับซ้อน ฟันปลายรากเปิดที่มีผนังคลองรากบางเสี่ยงต่อการแตกหักและคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อซ้ำ โดยเชื้อที่พบในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อซ้ำมากที่สุดคือเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส *(Enterococcus faecalis)*(5) ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้ในการติดเชื้อในคลองรากแบบปฐมภูมิเช่นกัน มีคุณสมบัติทนต่อสภาวะที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการอุดคลองรากและดื้อต่อฤทธิ์การฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นยาที่นิยมใส่ในคลองรากทำให้การกำจัดเชื้อชนิดนี้ทำได้ยาก(6)

ยาที่ใส่ในคลองรากฟันมีบทบาทสำคัญในการลดปริมาณเชื้อในคลองรากฟัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคลองรากที่ไม่สามารถเข้าไปทำความสะอาดด้วยวิธีการเตรียมคลองรากปกติได้ ต้องอาศัยคุณสมบัติการแพร่กระจายของยาเข้าไปสู่ผนังคลองรากฟันในส่วนที่ซับซ้อน แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่ใช้มากที่สุดในการรักษาคลองรากฟัน มีพีเอชสูงประมาณ 12.5 - 12.8 มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำทำให้แตกตัวออกเป็นแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และไฮดรอกซิลไอออน (OH^-) อย่างช้าๆ โดยไฮดรอกซิลไอออนจะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ เปลี่ยนสภาพโปรตีน และทำลายสารพันธุกรรมของเชื้อจุลชีพ (7) แต่อย่างไรก็ตามแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสและแคนดิดา อัลบิแคน *(Candida albican)* เนื่องจากสามารถทนสภาวะความด่างสูงได้ร่วมกับการที่เนื้อฟันสามารถลดความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์จากกระบวนการบัฟเฟอร์ทำให้พีเอชที่เกิดจากการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่เพียงพอที่จะฆ่าเชื้อได้ (6)

ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก (triple antibiotic paste) ถูกนำมาใช้ในการกำจัดเชื้อในรอยโรคฟันผุและผนังคลองรากฟันที่ติดเชื้อและมีการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากของฟันแท้ที่ถูกถอนมาแล้วโดย Hoshino และคณะ (8) พบว่าเมื่อนำยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกซึ่งประกอบด้วย เมโทรนิดาโซล (metronidazole), มิโนซัยคลิน (minocycline) และ ซิโพรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) ละลายในแมคโครกอล (macrogol) และโพรพีลีนไกลคอล (propylene glycol) ที่ผสมกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยใช้ยาทั้ง 3 ชนิดที่แต่ละตัวมีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อมากกว่ายาปฏิชีวนะชนิดเดียวและจะไม่พบการกลับมาของเชื้อช่วยลดโอกาสการดื้อยาของเชื้อ นอกจากนี้ผลการศึกษาในห้องทดลองพบว่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส (9, 10) โดย Sabrah และคณะ พบว่าความเข้มข้นต่ำสุด (minimum bactericidal concentration)ของยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (11) จึงเป็นเหตุผลให้มีการนำยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกที่มีความสามารถในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส มาใช้อย่างแพร่หลายในการกำจัดเชื้อในฟันน้ำนมที่มีรอยโรคปลายรากเรียกว่า

แอลเอสทีอาร์ (lesion sterilization and tissue repair, LSTR) (12) การรักษาฟันแท้ที่มีรอยโรคขนาดใหญ่ ซึ่งจากรายงานผู้ป่วยของ Özan และ Er (13) พบว่า ฟันแท้ที่มีรอยโรครอบปลายรากขนาดใหญ่คล้ายถุงน้ำที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เมื่อใส่ยายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกในคลองรากเป็นเวลา 2 เดือน พบการหายของรอยโรคปลายรากได้และการทำรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ (regenerative endodontics) ซึ่งใช้ในการรักษาฟันแท้ปลายรากเปิดที่มีการตายเพื่อหวังผลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างรากต่อและการกลับมามีชีวิตของฟัน เนื่องจากฟันปลายรากเปิดมีผนังคลองรากที่บางและมีรูเปิดปลายรากที่กว้างทำให้ความแข็งแรงของรากฟันน้อยมีความเสี่ยงในการแตกหักของรากฟันที่สูง จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อเพียงอย่างเดียว ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกสามารถกำจัดเชื้อในฟันแท้ปลายรากเปิดที่มีการตายของเนื้อเยื่อในได้ ภายหลังการรักษาไม่พบอาการและอาการแสดงของผู้ป่วยและก่อให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อรอบปลายราก (14)

ถึงแม้ว่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกจะได้รับความนิยมในการใช้เป็นทางเลือกในการกำจัดเชื้อในคลองราก อย่างไรก็ตามพบการติดสีของตัวฟันภายหลังการใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกคาดว่าน่าจะเกิดจากยามิโนซัยคลินซึ่งเป็นยาในกลุ่มเตตราซัยคลิน (tetracycline) ที่มีคุณสมบัติในการเกาะติดเนื้อฟันและจับกับคอลลาเจน (15) มีการศึกษาที่พยายามหาสูตรยาที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเทียบเท่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก อาทิเช่นการใช้ยาดับเบิ้ลแอนติไบโอติก (double antibiotic paste) ที่ประกอบไปด้วย เมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซินหรือการใช้ยาชนิดอื่นทดแทนยามิโนซัยคลิน อาทิเช่น เซฟาคลอ (cefaclor) และอะม็อกซีซิลลิน (amoxycillin) เป็นต้น ซึ่งให้ผลดี (16)

นอกจากนี้ยามิโนซัยคลินที่เป็นส่วนประกอบของยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกยังหาซื้อได้ยากในประเทศไทย ในขณะเดียวกันการติดเชื้อในคลองรากฟันมักพบการติดเชื้อปฐมภูมิเป็นหลัก ซึ่งมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลินและคลาวูลานิคแอซิด (clavulanic acid) สูงถึงร้อยละ 100 (17-19) การเลือกใช้ยาเฉพาะกลุ่มที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อน่าจะเพียงพอในการกำจัดเชื้อ

ออกเมนติน (Augmentin®) คือชื่อทางการค้าของสูตรผสมยาอะม็อกซีซิลลินและคลาวูลานิคแอซิด โดยยาอะม็อกซีซิลลิน จัดอยู่ในกลุ่มเพนิซิลลิน (penicillins) ที่มีโครงสร้างวงเบต้า-แลคแตม (beta-lactam ring nucleus) เป็นองค์ประกอบในการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อมีการเติมคลาวูลานิคแอซิดที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบต้า-แลคแตมเมส (beta-lactamase) ที่เชื้อหลั่งมาไม่ให้ไปทำลายวงเบต้าแลคแตมของยา ทำให้ขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างมากขึ้นสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ โดยออกเมนตินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส (ATCC 29212) ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.09 ถึง 2.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (20)

Saber และ El-Hady (21) พบว่า การใส่ยาออกเมนตินในฟันถอนของมนุษย์ที่ได้รับการติดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสนาน 30 วันให้ผลการเพาะเชื้อเป็นลบถึงละ 80 นอกจากนี้ เมื่อนำอะม็อกซีซิลลินทดแทนมิโนซัยคลินในยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกที่ใส่ในคลองรากฟันที่รักษาด้วยวิธีรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ให้ผลทางคลินิกที่ดี พบการเปลี่ยนแปลงสีของตัวฟันน้อยกว่าการใช้มิโนซัยคลิน (22) อีกทั้ง Kaushik และคณะ (23) พบว่ายาออกเมนติน ซึ่งประกอบด้วยอะม็อกซิซิลลิน 875 มิลลิกรัมและคลาวูลานิคแอซิด 125 มิลลิกรัม สามารถฆ่าเชื้อในคลองราก 14 สายพันธุ์ โดยใช้ความเข้มข้นต่ำกว่ายาเมโทรนิดาโซลและซิโพรฟลอกซาซิน 2 ถึง 5 เท่า

เนื่องจากยามิโนซัยคลินมีผลข้างเคียงที่อาจทำให้การติดสีของตัวฟันและหาซื้อได้ยากในประเทศไทย คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาผลของยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินในขั้นตอนการใส่ยาเพื่อกำจัดเชื้อของการรักษาคลองรากฟันแท้ที่ได้รับการติดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งเป็นเชื้อที่พบในคลองรากที่การติดเชื้อคลองรากแบบปฐมภูมิและการติดเชื้อซ้ำมีความทนทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการรักษาคลองราก

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ (Materials and methods)

การวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการจริยธรรมในคนประจำคณะทันตแพทยศาตสร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่หนังสือรับรอง DENTSWU-EC 11/2561 โดยใช้ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวปราศจากรอยผุที่ได้รับการถอนและเก็บในสารละลายไทมอลโดยไม่มีการระบุตัวตน จำนวน 70 ซี่ ได้รับการสุ่มด้วยวิธีจับฉลากเพื่อจัดแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนติน กลุ่มละ 30 ซี่ นอกจากนั้นจะถูกแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ กลุ่มละ 5 ซี่

การเตรียมฟัน

ฟันกรามน้อยล่างรากเดี่ยวที่ไม่มีรอยผุและรอยร้าว จำนวน 70 ซี่ มาทำการตัดฟันที่รอยต่อของเคลือบฟันและเคลือบราก เตรียมคลองรากฟันด้วยเกตส์ กลิดเดน (gates glidden drill), ไฟล์ชนิดเค (K files) และไฟล์โปรเทปเปอร์ยูนิเวอร์แซล (Protaper universal) ขนาด เอฟ 1, เอฟ 2, เอฟ 3, และ เอฟ 4 (40/0.06) ตามลำดับ ระหว่างการเปลี่ยนเครื่องมือขณะขยายคลองรากฟันจะล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 เสมอ กำจัดชั้นเสมียร์ (smear layer) โดยการล้างโซเดียมไฮโปคลอไรต์ร้อยละ 6 จำนวน 2 มิลลิลิตร อีดีทีเอ (EDTA) ร้อยละ 17 จำนวน 2 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ร้อยละ 6 จำนวน 2 มิลลิลิตร ในฟันแต่ละซี่ด้วยเข็มและกระบอกฉีด จากนั้นใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ (eppendorf) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเบรนฮาร์ท์อินฟิวชั่น 0.5 มิลลิลิตร ก่อนเข้าสู่กระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และเก็บในตู้อบเชื้อสูญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการปราศจากเชื้อและการตรวจความบริสุทธิ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะซึ่งเอาไฟบรินออกแล้ว

การเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟัน

เพาะเลี้ยงเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสสายพันธุ์เอทีซีซี 29212 (องค์กร American Type Culture Collection, เวอร์จิเนีย สหรัฐอเมริกา นำเข้าโดยบริษัทไบโอมีเดีย จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะเก็บในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อไปเลี้ยงในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลวข้ามคืนและปรับความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง (absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณเชื้อประมาณ 1x108 โคโลนี-ฟอร์มมิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตร (colony-forming unit per milliliter, CFU/ml) จากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้ออยู่จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในคลองรากที่มีฟันกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมบวกอยู่ โดยฟันแต่ละซี่อยู่ในหลอดจากนั้นเก็บในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาทิ้งไว้นาน 21 วันเพื่อให้เชื้อแพร่กระจายเข้าไปตามท่อเนื้อฟันทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสัปดาห์เพื่อป้องกันการขาดแคลนอาหารหลังจากครบ 21 วัน จะได้ฟันที่มีการติดเชื้อทั้งหมด 65 ซี่ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อด้วยการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะทุกสัปดาห์และทำการสุ่มซี่ฟันในกลุ่มควบคุมเพื่อตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเมื่อครบ 21 วัน

การเก็บเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น

ล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (พีบีเอส) ที่ปราศจากเชื้อ 2 มิลลิตร ใส่สารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อด้วยกระบอกฉีดและเข็มขนาด 27 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.40 มิลลิเมตร ในคลองรากฟันนาน 60 วินาที จากนั้นซับด้วยกระดาษซับและนำไปใส่ในหลอดที่มีสารละลายพีบีเอส 1 มิลลิลิตร เพื่อให้มั่นใจว่าได้ปริมาณเชื้อที่ถูกต้องจะทำการเขย่าหลอดที่ใส่สารตัวอย่างก่อนการเพาะเชื้อเพื่อทำการนับเสมอ เพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะในตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมยาที่ใส่ในคลองรากฟัน

ในการศึกษานี้มียาที่ใส่ในคลองรากฟันทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก และออกเมนติน กระบวนการเตรียมยาปฏิชีวนะโดยการชั่งยาในเครื่องชั่งมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

1. ทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรเตรียมจากผงยาเมโทรนิดาโซล (ชื่อการค้า metronidazole, บริษัท สหแพทย์เภสัช จำกัด สมุทรสาคร ประเทศไทย) มิโนซัยคลิน (คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล) และซิโพรฟลอกซาซินโซล (ชื่อการค้า floxcipro, บริษัท สหแพทย์เภสัช จำกัด สมุทรสาคร ประเทศไทย) อย่างละ 500 มิลลิกรัมผสมกับน้ำเกลือ 15 มิลลิลิตร

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

ผสมในขวดปราศจากเชื้อและเข้าเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 30 วินาที ลักษณะยาที่ได้จะเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ขั้นตอนการกำจัดเชื้อ

การกำจัดเชื้อในคลองรากฟัน ใช้กระบอกฉีดและเข็มขนาด 25 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.50 มิลลิเมตร นำยาใส่ในคลองราก โดยการสุ่มเพื่อแบ่งกลุ่มของฟันตามยาที่ใช้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในฟัน 30 ซี่

กลุ่มที่ 2 ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในฟัน 30 ซี่

กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการเพาะเชื้อเริ่มต้นและล้างสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอรซาลีนเท่านั้น จำนวน 5 ซี่

กลุ่มที่ 4 กลุ่มควบคุมลบที่บ่มด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อและล้างสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอรซาลีน จำนวน 5 ซี่

จากนั้นปิดทางเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในด้วยเคาวิตอน (Caviton, บริษัท GC corporation จำกัด โตเกียว ประเทศญี่ปุ่น) หนา 4 มิลลิเมตรบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศา 14 วัน เมื่อครบตามเวลากำจัดเคาวิตอนและล้างคลองรากด้วยสารละลายพีบีเอสซับคลองรากให้แห้งด้วยกระดาษซับ

การเก็บเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย

หลังจากเสร็จขั้นตอนการกำจัดเชื้อ ล้างคลองรากด้วยสารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อ 2 มิลลิลิตร จากนั้นใส่สารละลายพีบีเอสที่ปราศจากเชื้อในคลองรากฟัน ใช้เอชไฟล์ขนาด 15 ถูผนังโดยรอบซับด้วยกระดาษซับ และนำไปใส่ในหลอดที่มีสารละลายพีบีเอส 1 มิลลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารและเพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยอะการ์เติมเลือดแกะในตู้อบเชื้อสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อด้วยลักษณะโคโลนี หากพบการปนเปื้อนโคโลนีของเชื้อชนิดอื่นจะทำการคัดฟันซี่นั้นออกจากการศึกษา

การตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

สุ่มเลือกคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมบวก ควบคุมลบและกลุ่มทดลองหลังการใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินกลุ่มละ 1 ซี่ ล้างด้วยสารละลายพีบีเอส 3 ครั้ง ทำการตรึงเนื้อเยื่อด้วยน้ำยา กลูตารัลดีไฮด์ ร้อยละ 2.5 ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศา จากนั้นทำการดึงน้ำออก (dehydration) ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 30 นาน 15 นาที ร้อยละ 50 นาน 15 นาที ร้อยละ 70 นาน 15 นาที และในแอปโซลูทแอลกอฮอล์ 15 นาที 3 ครั้ง จากนั้นนำตัวอย่างแช่ใน hexamethyldisilazane ปล่อยระเหยแห้ง เมื่อตัวอย่างแห้งดีแล้ว จึงแบ่งฟันตามแนวแกนกลางจากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบทองและส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JEOL, JSM-6510 LV, Japan) ในโหมดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron image, SEI)

การจัดข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่นับได้จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกรายงานในหน่วยโคโลนีฟอร์มมิ่ง-ยูนิตต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นใช้ค่าลอการิทึม (logarithm) ฐาน 10 ในการรายงานผลและทดสอบสถิติ หากไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเลยจะทำการแปลงค่าด้วยการบวก 1 เพื่อให้สามารถเข้าสมการลอการิทึมได้ ที่มีความหมายว่าพบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเจริญของเชื้ออยู่ด้วย

การรายงานผลการลดลงของจำนวนโคโลนีเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสหลังใส่ยาปฏิชีวนะโดยการคำนวณตามสมการต่อไปนี้ (20)

ปริมาณเชื้อที่ลดลงในหน่วยลอการิทึมฐาน 10 ของจำนวนโคโลนี-ฟอร์มมิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตร

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

เมื่อ ก คือ ปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้น (CFU/ml)
ข คือ ปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากครั้งสุดท้าย (CFU/ml)

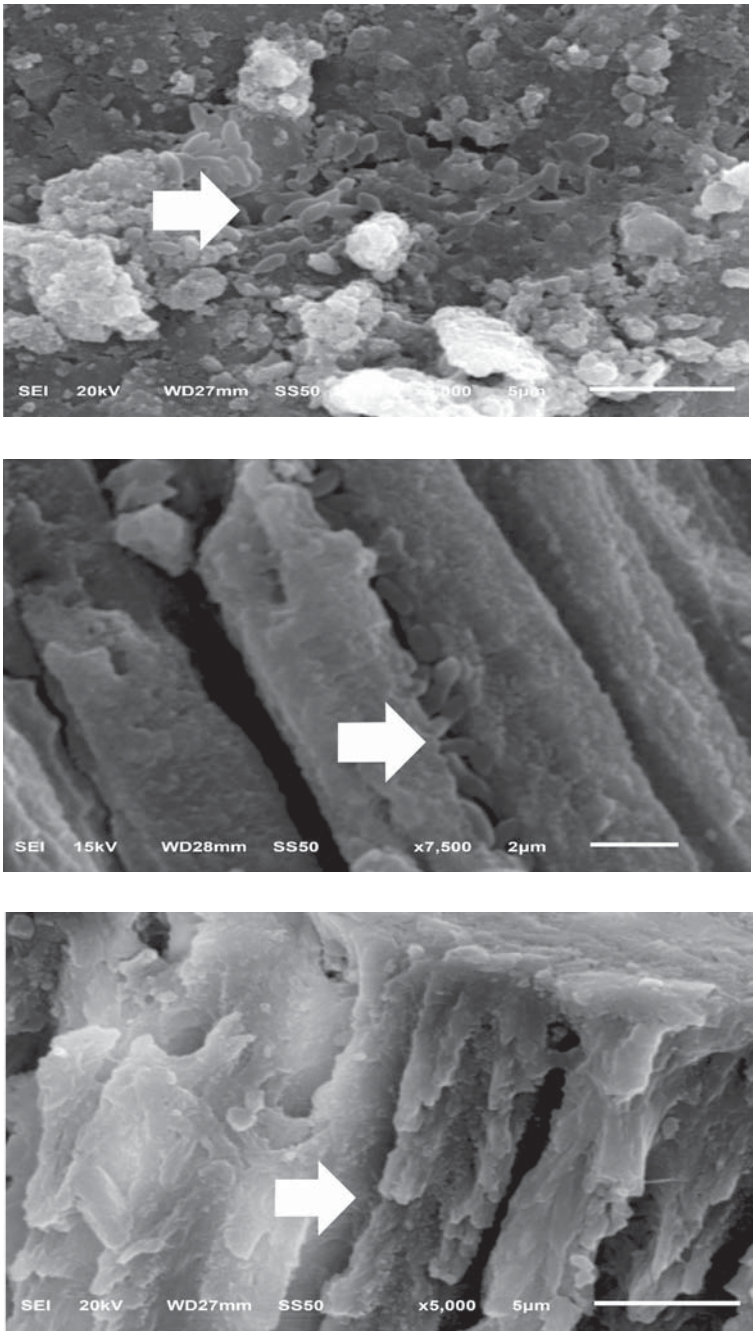
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลจะได้รับการแจกแจงเป็นหมวดหมู่โดยโปรแกรมสำเร็จรูปเอสพีเอสเอส เวอร์ชั่น 22 จากนั้นตรวจสอบการแจกแจงข้อมูลของค่าปริมาณเชื้อที่ใช้ค่าลอการิทึมฐาน 10 ด้วยโคลโมโกรอฟ-สเมอร์นอฟ (Kolmogorov-Smirnov test) แล้วเปรียบเทียบปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในคลองรากฟันที่ลดลงหลังใส่ยาสองชนิดด้วยการทดสอบแมน-วิทนีย์ยู ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลอง (Results)

ผลการตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

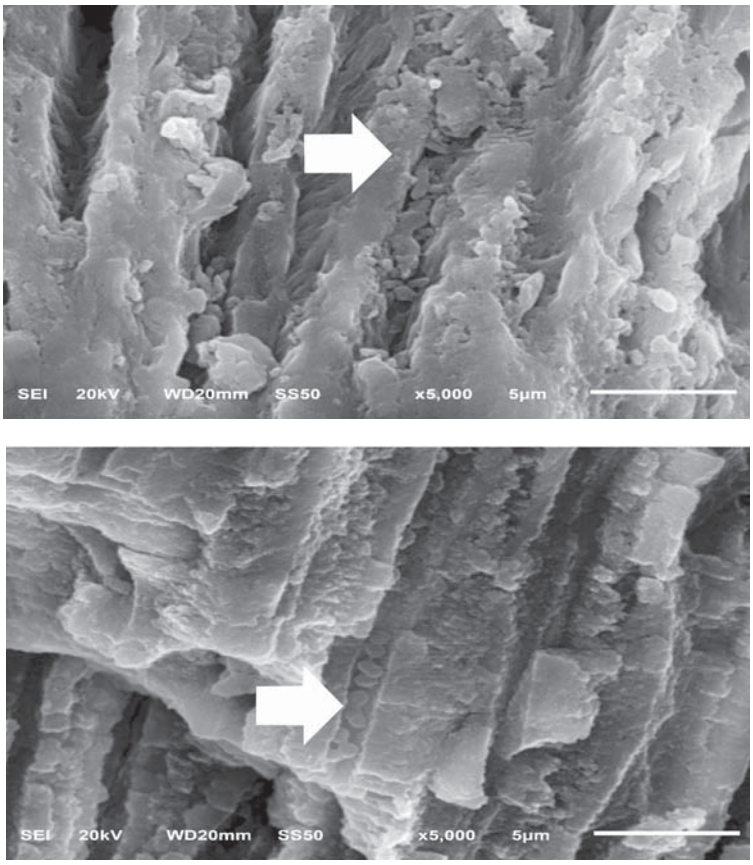
ผลการตรวจหาเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการติดเชื้อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ามีการแทรกตัวของเชื้อในท่อเนื้อฟันและการเกาะตัวเป็นกลุ่มของจุลชีพบนผนังคลองราก แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถสร้างแผ่นชีวภาพบนผนังคลองรากฟันได้และในกลุ่มควบคุมลบไม่พบกลุ่มเชื้อบนผนังคลองรากและในท่อเนื้อฟันดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรชี้เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ที่ผิวคลองรากฟัน (i) และในท่อเนื้อฟัน (ii) ของกลุ่มควบคุมบวก ที่กำลังขยาย 7500 และ 5000 เท่า ตามลำดับ ลูกศรชี้ท่อเนื้อฟันที่ไม่พบเชื้อ (iii) ของกลุ่มควบคุมลบที่กำลังขยาย 5000 เท่า

Fig 1. Scanning electron microscope images of root canal wall arrows demonstrate that *Enterococcus faecalis* colonized on root canal wall (i) and in dentinal tubule (ii) of positive control group at 7500X and 5000X magnification, respectively. Arrow shows dentinal tubule without bacteria cell (iii) in negative control group at 5000X magnification.

ในขณะที่ฟันกลุ่มทดลองที่ใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก และออกเมนตินเป็นเวลา 14 วัน นั้นภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดยังพบว่ามีเชื้อแทรกตัวอยู่ในท่อเนื้อฟันอยู่ดังรูปที่ 2



i

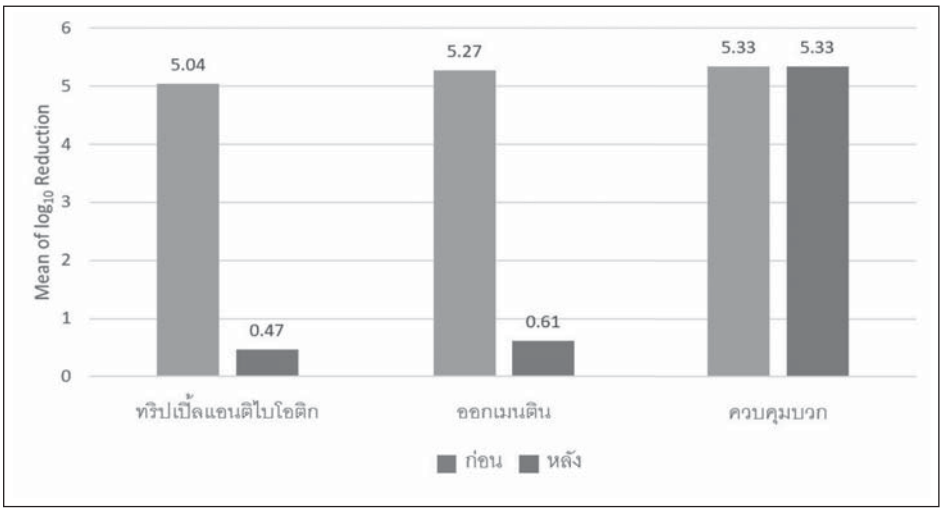
ii

รูปที่ 2 ภาพท่อเนื้อฟันส่วนคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลูกศรชี้กลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสกลุ่มยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก (i) และออกเมนติน (ii) ที่กำลังขยาย 5000 เท่า

Fig 2. Scanning electron microscope images of root canal wall, arrows demonstrate that *Enterococcus faecalis* infiltrated into dentinal tubule of triple antibiotics (i) and Augmentin® groups (ii) at 5000x magnification.

ผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ

ผลการเพาะเชื้อในคลองรากเป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจากการเพาะเชื้อจากคลองรากเริ่มต้นเท่ากับ 2.24 x 105 CFU/ml หรือ 5.16 log CFU/ml และไม่พบการเจริญของเชื้อในกลุ่มควบคุมลบ โดยปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสในแต่ละกลุ่มก่อนและหลังการรักษาแสดงดังรูปที่ 3 ส่วนผลการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะนั้นพบว่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.367) ค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (range: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (range: 2.56 – 5.91) log CFU/ml ตามตาราง 1 หรือคิดเป็นร้อยละ 99.96 และ 99.97 ตามลำดับ นอกจากนี้ทั้งยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินยังพบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเจริญของเชื้อคิดเป็นร้อยละ 76.6 และ 73.33 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.383) ดังตาราง 2



รูปที่ 3 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสก่อนและหลังจากใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนติน

Fig 3. Mean and standard deviation of *Enterococcus faecalis* before and after treated with triple antibiotic and Augmentin® pastes.

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ลดลง (log CFU/ml) ระหว่างกลุ่มทดลอง

Table 1. Comparison of bacterial reduction (log CFU/ml) between treatment groups

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

* ไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.367) โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test

ตารางที่ 2 ร้อยละของจำนวนซี่ฟันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

Table 2. Percentage of teeth with negative culture

ชนิดของยา	ร้อยละของจำนวนซี่ฟันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ	p-value*
ทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก (n = 30)	76.67 (23/30)	0.383
ออกเมนติน (n = 30)	73.33 (22/30)	

*ไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.383) โดยใช้สถิติ Chi-square test

บทวิจารณ์ (Discussion)

การศึกษาครั้งนี้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของยาที่ใส่ในคลองรากฟันของมนุษย์เพื่อจำลองสถานการณ์การรักษาคลองรากให้เสมือนจริงมากที่สุด เลือกทดสอบกับเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งเป็นเชื้อที่พบบ่อยที่สุดในคลองรากที่การรักษาคลองรากล้มเหลว (5, 24) ทนทานต่อสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อ หากยาสามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้น่าจะกำจัดเชื้ออื่นที่มีความทนทานน้อยกว่าได้ โดยทำการศึกษาในรูปแบบของแผ่นชีวภาพที่มีอายุ 3 สัปดาห์หรือ 21 วันซึ่งมีความทนทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการรักษาคลองราก (25)

การสร้างแผ่นชีวภาพในการศึกษานี้จะแยกฟันแต่ละซี่ในหลอด (26) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนและพบว่าได้ปริมาณเชื้อที่แน่นอนกว่าการใส่ฟันหลายซี่รวมกันในภาชนะเดียว

เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าเมื่อดำเนินการตามวิธีวิจัยสามารถสร้างแผ่นชีวภาพบนผนังคลองรากได้จริงตามการศึกษาก่อนหน้า (10, 25-27) ดังรูปที่ 1 พบว่ากลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการติดเชื้อพบกลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสแทรกตัวในท่อเนื้อฟันและบนผนังคลองราก จึงสามารถใช้เป็นตัวแทนของสถานการณ์ที่เกิดขึ้นในทางคลินิกได้

ปัจจุบันการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกน (confocal laser scanning microscope) เป็นวิธีการวิเคราะห์เชื้อที่ได้รับความนิยม เนื่องจากสามารถสร้างภาพ 3 มิติของแผ่นชีวภาพในสิ่งมีชีวิตได้และสามารถทำการตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อและวัดสัดส่วนของเชื้อที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตได้ด้วยการย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ แต่อย่างไรก็ตามเป็นวิธีการที่ยุ่งยากและค่าใช้จ่ายแพงมาก อีกทั้งได้กำลังขยายไม่เกิน 1500 เท่า (28) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้วิธีการนับเชื้อที่มีชีวิตจากการเพาะเชื้อซึ่งสามารถระบุจำนวนของเชื้อที่มีชีวิตอยู่ได้ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและมีความน่าเชื่อถือ โดยทำการยืนยันลักษณะของเชื้อด้วยลักษณะโคโลนีและการย้อมสีแกรม

ในขั้นตอนของการเก็บตัวอย่างเชื้อจากคลองรากนั้นใช้กระดาษซับเพียงอย่างเดียวในการเก็บตัวอย่างครั้งแรกเนื่องจากต้องการวัดผลเปรียบเทียบก่อนและหลังการใส่ยา หากใช้ไฟล์ในการเก็บเชื้อที่อยู่ในชั้นผนังคลองรากอาจทำให้ปริมาณเชื้อที่อยู่บริเวณผนังลดลงได้ การใช้กระดาษซับเพียงอย่างเดียวในการเก็บตัวอย่างเชื้อในการวิจัยครั้งนี้พบปริมาณเชื้อสูงถึง 2.24 x 105 CFU/ml ส่วนในการเก็บเชื้อครั้งสุดท้ายจะใช้เอชไฟล์ขนาด 15 ถูผนังโดยรอบ (10) เพื่อเก็บเชื้อบริเวณผนังคลองรากฟันเนื่องจากการศึกษาของ Chivatxaranukul และคณะ (29) พบว่าเชื้อเอนเทอโร-คอคคัส ฟีคาลิสสามารถแทรกตัวเข้าไปอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ลึกถึง 156.2 ไมโครเมตรในคลองรากที่ได้รับการขยายและล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และพบว่าการทำให้ฟันปลอดเชื้อด้วยตู้อบความดันไอน้ำจะพบการแทรกตัวของเชื้อน้อยกว่าฟันที่ใช้รังสีแกมมาในการฆ่าเชื้อ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ตู้อบความดันไอน้ำไม่มีผลต่อการแทรกตัวของเชื้อที่ใช้ศึกษาในท่อเนื้อฟันเช่นเดียวกับการศึกษาของ Latham และคณะ (10)

การเตรียมของคลองรากก่อนการใส่ยานั้นเพื่อให้คลองรากฟันทั้งหมดมีขนาดเท่ากันคือที่ตำแหน่งความยาวทำงานเท่ากับ 0.40 มิลลิเมตรความผายร้อยละ 6 (ไฟลโปรเทปเปอร์ยูนิเวอร์แซล เอฟ 4) สามารถใส่เข็มล้างขนาด 27 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.40 มิลลิเมตร นำสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองไปสู่บริเวณปลายรากได้ และในขั้นตอนการใส่ยาในคลองรากเลือกใช้เข็มล้างขนาด 25 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.50 มิลลิเมตรเข้าไปยังบริเวณที่สั้นความยาวทำงาน 1 มิลลิเมตรได้ โดยการใช้เข็มล้างและกระบอกฉีดในการใส่ยานั้นทำให้สามารถควบคุมปริมาณยาที่ใส่ในแต่ละคลองรากได้

ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนว่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสสามารถลดปริมาณเชื้อในคลองรากฟันแท้ได้ถึงร้อยละ 99.96 ซึ่งสอดคล้องกับ Madhubala และคณะ (9) ที่พบว่าการใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกนาน 7 วันสามารถลดเชื้อได้ร้อยละ 98.46 นอกจากนี้การใช้ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกยังสามารถทำให้ผลการเพาะเชื้อ

ในคลองรากฟันแท้เป็นลบได้ร้อยละ 76.67 (23 ซี่จากทั้งหมด 30 ซี่) และภาพถ่ายผนังคลองรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 2) ของฟันที่ได้รับยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติก และออกเมนตินเป็นเวลา 14 วันมีเชื้อแทรกตัวอยู่ในท่อเนื้อฟันอยู่ แม้ผลการเพาะเชื้อในคลองรากเป็นลบจะมีสัดส่วนน้อยกว่าการศึกษาของ Latham และคณะ (10) ที่พบว่า ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 30 วัน สามารถทำให้ผลการเพาะเชื้อจากคลองรากฟันแท้เป็นลบได้ร้อยละ 100 (8 ซี่) และไม่พบเชื้อในท่อเนื้อฟันอาจเป็นผลมาจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นของการวิจัยครั้งนี้ที่มากกว่าและมีการล้างด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ร่วมด้วย แต่อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อที่ลดลงในการศึกษาครั้งนี้มีปริมาณเชื้อที่ลดลงเท่ากับ 4.86 log CFU/ml ซึ่งมากกว่าการศึกษาของ Latham และคณะ (10) ที่ลดลงเพียง 2.54 เช่นเดียวกับผลยาออกเมนตินที่สามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึงร้อยละ 99.97 หรือ 4.92 log CFU/ml และทำให้ผลการเพาะเชื้อในคลองรากเป็นลบได้ร้อยละ 73.33 (22 ซี่จากทั้งหมด 30 ซี่) ซึ่งผลน้อยกว่าการศึกษาของ Saber และ El-Hady (21) ที่พบว่าให้ผลการเพาะเชื้อในคลองรากฟันแท้เป็นลบได้ร้อยละ 80 (16 ซี่จากทั้งหมด 20 ซี่) แต่พบว่าอาจเป็นผลมาจากปริมาณเชื้อตั้งต้นที่มากกว่าเช่นเดียวกัน นอกจากนี้การศึกษาของ AlSaeed และคณะ (30) ยังพบว่ายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินสามารถกำจัดเชื้อกลุ่มปฐมภูมิและเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสซึ่งเป็นเชื้อกลุ่มทนทานในคลองรากฟันแท้ได้

อย่างไรก็ตามพบว่าผลการกำจัดเชื้อของยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.383) โดยค่ามัธยฐานปริมาณเชื้อที่ลดลงภายหลังการใส่ยาเท่ากับ 4.86 (range: 2.42 – 5.79) และ 4.92 (range: 2.56 – 5.91) log CFU/ml เช่นเดียวกับการศึกษาของ AlSaeed และคณะ (30) คาดว่าเป็นผลมาจากการที่เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลินและคลาวูลานิคแอซิดร้อยละ 100 (17,18,31,32) นอกจากนี้แล้วออกเมนตินยังมีขอบข่ายในการออกฤทธิ์ที่กว้าง เชื้อที่พบในคลองรากฟันแท้ที่มีการติดเชื้อปฐมภูมินั้นมีความไวต่อยาอะม็อกซีซิลลิน และคลาวูลานิคแอซิดสูงถึงร้อยละ 100 (17-19)

ในการศึกษานี้เลือกใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาเนื่องจากการศึกษาของ Hwang และคณะ (27) พบว่าเมื่อใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาในการนำส่งยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกจะสามารถลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสได้มากกว่าเมทิลเซลลูโลสคาดว่าเป็นผลมาจากการไหลแผ่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่าและการศึกษาของ Sungur และคณะ (33) ที่ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกนศึกษาพบว่าโพรพีลีนไกลคอลและน้ำกลั่นเป็นกระสายยาให้ผลการแพร่กระจายยาไม่แตกต่างกัน อีกทั้งโมเลกุลของยาออกเมนตินเป็นโมเลกุลแบบมีขั้วจึงละลายได้ดีเมื่อใช้น้ำเกลือเป็นตัวทำละลาย น้ำเกลือสามารถหาได้ง่ายทำการเตรียมยาไม่ยุ่งยากซึ่งผลการศึกษาของเราพบว่าการใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาให้ผลการฆ่าเชื้อได้ดี

จากการศึกษานี้พบว่าการใช้ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมที่ใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยาสามารถกำจัดเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่มีความทนทานสูงได้จึงคาดว่าจะสามารถนำไปใช้เป็นทางเลือกในกำจัดเชื้อในคลองรากทั่วไปอย่างการติดเชื้อปฐมภูมิที่ไม่มีความซับซ้อนได้ดีเช่นเดียวกัน อาจนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกเพื่อเสริมการกำจัดเชื้อในกรณีที่ไม่ตอบสนองต่อการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์หรือไม่สามารถหายาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกที่มียามิโนซัยคลินเป็นส่วนประกอบซึ่งหาซื้อได้ยากในประเทศไทยได้ ช่วยลดโอกาสการเกิดฟันเปลี่ยนสี และลดความยุ่งยากในการเตรียมยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกที่ต้องผสมยาหลายชนิด

สรุปผลการวิจัย

ภายใต้การจำลองสถานการณ์ในคลองรากฟันพบว่าการใส่ยาทริปเปิ้ลแอนติไบโอติกและออกเมนตินในคลองรากฟันสามารถลดปริมาณเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสไม่แตกต่างในทางสถิติ (p-value = 0.383) การใช้ออกเมนตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ที่ใช้น้ำเกลือเป็นกระสายยา จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการนำไปประยุกต์ใช้ในกำจัดเชื้อในคลองรากทั่วไปในทางคลินิกได้

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ผู้สนับสนุนทุนอุดหนุนงานวิจัย ขอขอบพระคุณ อ.ดร.ทพญ.จารุมา ศักดิ์ดี และ ผศ.ดร.ทพญ.ปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อการปรับปรุงแก้ไขงานวิจัยในครั้งนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์และภาควิชาโอษฐ์วิทยามหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านและบุคลากรประจำภาควิชาทุกท่านที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณคุณกนกพร สุขยานันท์ คุณพัชร์ณัฏฐ์ ศรีพอและคุณศิริพงศ์ ตั้งประเสริฐ เจ้าหน้าที่คณะทันตแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้ความช่วยเหลือในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในทุกๆด้านทำให้งานวิจัยสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965;20:340-9.

2. Siqueira JF. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94(3):281–93.

3. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990;6(4):142–9.

4. Matsuo T, Shirakami T, Ozaki K, Nakanishi T, Yumoto H, Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. J Endod. 2003;29(3):194–200.

5. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol. 2004;19(2):71–6.

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

7. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology: Calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. Int Endod J. 2011;44(8):697–730.

8. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. Int Endod J. 1996;29(2):125–30.

9. Madhubala MM, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative Evaluation of Propolis and Triantibiotic Mixture as an Intracanal Medicament against Enterococcus faecalis. J Endod. 2011;37(9):1287–9.

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

11. Sabrah AH, Yassen GH, Gregory RL. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of Enterococcus faecalis and Porphyromonas gingivalis. J Endod. 2013;39(11):1385–9.

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

13. Özan U, Er K. Endodontic treatment of a large cyst-like periradicular lesion using a combination of antibiotic drugs: a case report. J Endod. 2005;31:898-900.

14. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment Options: Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures. Journal of Endodontics. 2013;39(3):S30–43.

15. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY.Tooth discoloration of immature permanent incisorassociated with triple antibiotic therapy: a case report. J Endod. 2010;36:1086–91.

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

17. Khemaleelakul S, Baumgartner JC, Pruksakorn S. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94(6):746-55.

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

19. Sousa E, Gomes B, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C. Microbiological profile and antimicrobial susceptibility pattern of infected root canals associated with periapical abscesses. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013;32(4):573-80.

20. Kaur Sp, Rao R, Nanda S. Amoxicillin: a board sprectrum antibiotic. Int J Pharm Pharm Sci. 2011;3(3):30-7.

21. Saber SE-DM, El-Hady SA. Development of an intracanal mature *Enterococcus faecalis* biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study. Eur J Dent. 2012;6(1):43-50.

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

23. Kaushik S, Scoffield J, Andukuri A, Alexander G, Walker T, Kim S, et al. Evaluation of ciprofloxacin and metronidazole encapsulated biomimetic nanomatrix gel on *Enterococcus faecalis* and *Treponema denticola.* Biomater Res. 2015;19(9):1-10.

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

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

26. Valverde ME, Baca P, Ceballos L, Fuentes MV, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antibacterial efficacy of several intracanal medicaments for endodontic therapy. Dent Mater J. 2017;36(3):319–24.

27. Hwang D, Fong H, Johnson JD, Paranjpe A. Efficacy of different carriers for the triple antibiotic powder during regenerative endodontic procedures. Aust Endod J. 2018;44(3):208–14.

28. Piangsuk T, Pichetshote K, Khuankaew C, Kittiwinichnan N, Sanguthai P, Prasansuttiporn T, et al. Equipments in Morphological Analysis for Dental Research. CM Dent J. 2017;38(1):13-28.

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

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

31. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Drucker DB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Antimicrobial susceptibility of Enterococcus faecalis isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. Int Endod J. 2004;37(11): 756–63.

32. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPFA. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of Enterococcus faecalis Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. J Endod. 2016;42(7):1022–8.

33. Deniz Sungur D, Aksel H, Purali N. Effect of a Low Surface Tension Vehicle on the Dentinal Tubule Penetration of Calcium Hydroxide and Triple Antibiotic Paste. J Endod. 2017;43(3):452–5.

ติดต่อบทความ
ร้อยเอกหญิง พรรณปพร พิริยะโยธิน
แผนกทันตกรรม กองแพทย์ สำนักงานสนับสนุน
หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา กองทัพไทย 559 หมู่ 3
ถนนนาวงประชาพัฒนา แขวงสีกัน เขตดอนเมือง
กทม. 10210
โทรศัพท์ : 089 753 1057
จดหมายอิเล็กทรอนิกส์: phanpapornpi@gmail.com

Corresponding author:
Captain (Dr.) Phanpaporn Piriyayothin
Medical division of General support office,
Armed Forces Development Command, Royal
Thai Armed Forces, 559 Moo 3 Na Wong
Pracha Phatthana Road, Sikan, Don Mueang
District, Bangkok 10210, Thailand.
Tel: +66 89 753 1057
E-mail : phanpapornpi@gmail.com

Received Date: May 03, 2019
Revised Date: May 10, 2019
Accepted Date: Jun 17, 2019