

การต้านจุลชีพ ของสารผสมระหว่างมินเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกรีกเกต
และคลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต: การศึกษาในภาวะเทียมนอกร่าง
Antimicrobial Effect of Mineral Trioxide Aggregate Combined with
Chlorhexidine Gluconate: An *In Vitro* Study

ศรัณย์ เลียงศรี (Sran Liengsri)* บุญรัตน์ สัตตพันธ์ (Boonrat Sattapan)**
ดร.เกวาลิน ธรรมสิทธิ์บุรณ์ (Dr.Kewalin Thammasitboon)**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารผสมระหว่าง มินเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกรีกเกต (เอ็มทีเอ) และคลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต ร้อยละ 0.12 และ ร้อยละ 2 ในการต้านเชื้อจุลชีพเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ในภาวะเทียมนอกร่าง ด้วยวิธีการดัดฟิวชันโดยเฉพาะเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง เบร็นฮาร์ทอินฟิวชัน ในภาวะปราศจากออกซิเจน ให้มีความขุ่นมาตรฐาน 4 แมคฟาร์แลนด์ แล้วจึงทดสอบการต้านจุลชีพเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้แก่ สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) เอ็มทีเอผสมกับคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 และ เอ็มทีเอผสมกับคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2 โดยทดสอบภายหลังจากที่สารผสมแข็งตัวแล้ว (ที่ 4 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ) พบว่า สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีนร้อยละ 2 เป็นสารทดสอบชนิดเดียวที่ทำให้เกิดเขตยับยั้งซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 14.63 ± 1.93 มิลลิเมตร

ABSTRACT

The aim of this study was to experimentally compare the antimicrobial effect against *Enterococcus faecalis* between mineral trioxide aggregate (MTA) combined with 0.12% chlorhexidine (CHX) and MTA combined with 2% CHX. *Enterococcus faecalis* was cultured anaerobically in Brain Heart Infusion agar until turbidity of 4 McFarland was obtained. Combinations were tested as followed: MTA combined with distilled water (4-h set); MTA combined with 0.12% CHX (24-h set); MTA combined with 2% CHX (96-h set). Plates of agar were incubated for 24 hours; zone of inhibitions were observed thereafter. Results showed that MTA combined with 2% CHX was the only combination that could exhibit zone of inhibition of 14.63 ± 1.93 mm. The other two combinations exerted no inhibition against *Enterococcus faecalis*.

คำสำคัญ: มินเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกรีกเกต คลอร์เฮกซิดีน การต้านจุลชีพ

Key Words: Mineral trioxide aggregate, Chlorhexidine, Antimicrobial effect

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทนำ

มินเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกริเกต หรือ เอ็มทีเอ (Mineral trioxide aggregate, MTA) เป็นผงที่เกิดจากการรวมของสารหลัก 3 ชนิด คือ พอร์ตแลนด์ซีเมนต์ (Portland cement) ร้อยละ 75 บิสมัทออกไซด์ (bismuth oxide) ร้อยละ 20 และ ยิปซัม (gypsum) ร้อยละ 5 และยังมีออกไซด์ของโลหะต่าง ๆ อีกเช่น SiO_2 , CaO , MgO , K_2SO_4 และ Na_2SO_4 ซึ่งองค์ประกอบหลักของ เอ็มทีเอ คือ พอร์ตแลนด์ซีเมนต์ประกอบด้วย ไดแคลเซียมซิลิเกต (dicalcium silicate) ไตรแคลเซียมซิลิเกต (tricalcium silicate) ไตรแคลเซียมอะลูมิเนต (tricalcium aluminate) และ เตตระแคลเซียมอะลูมิโนเฟอไรต์ (tetracalcium aluminoferrite) (Sarkar *et al.*, 2005) โดยเริ่มแรก เอ็มทีเอ ได้รับการพัฒนาเพื่อใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน (root-end filling material) เนื่องจากคุณสมบัติเด่นของ เอ็มทีเอ ด้านความผนึกสมบูรณ์ (sealing ability) (Torabinejad *et al.*, 1993; Torabinejad *et al.*, 1995) และ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) (Ford *et al.*, 1995; Torabinejad *et al.*, 1995; Torabinejad *et al.*, 1995) แต่ต่อมา มีการนำมาประยุกต์เพื่อใช้งานอื่น เช่น การปิดแผลเนื้อเยื่อใน (pulp capping) การตัดเนื้อเยื่อในส่วนตัวฟัน (pulpotomy) การสร้างปลายราก (apexogenesis) การสร้างตัวกั้นส่วนปลายรากฟันในฟันปลายรากเปิด (apical barrier formation) การซ่อมรูทะลุในรากฟัน (root perforation) หรือแม้กระทั่งใช้เป็นวัสดุอุดคลองรากฟัน

ในด้านคุณสมบัติการด้านจุลชีพของ เอ็มทีเอ หลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่า เอ็มทีเอ มีฤทธิ์ต้าน ในด้านคุณสมบัติการด้านจุลชีพของ เอ็มทีเอ หลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่า เอ็มทีเอ มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Candida albicans* และ *Enterococcus faecalis* (Al-Nazhan *et al.*, 2003; Sipert *et al.*, 2005; Al-Hezaimi *et al.*, 2006; Al-Hezaimi *et al.*, 2006; Asgary *et al.*, 2008; Al-Hezaimi *et al.*, 2009) หลายการศึกษาได้ทดลองนำสารเหลวอื่น ๆ ใช้แทนน้ำในการผสม

เช่น ยาชา (Kogan *et al.*, 2006) phosphate buffered saline (PBS) รวมถึงคลอร์เฮกซิดีน พบว่า เอ็มทีเอที่ผสมกับคลอร์เฮกซิดีน มีประสิทธิภาพด้านจุลชีพต่อ *Enterococcus faecalis* (Stowe *et al.*, 2004; Holt *et al.*, 2007) ก่อนข้างคิ

คลอร์เฮกซิดีน เป็นสารละลายที่มีฤทธิ์ด้านจุลชีพอย่างกว้างขวางและถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานรักษาคคลองรากฟัน ได้แก่ น้ำยาล้างคลองรากฟัน และ ยาใส่ในคลองรากฟัน โดยมีความเข้มข้น ร้อยละ 0.12 และ 2 โดยในงานรักษาคคลองรากฟันมักใช้ความเข้มข้นสูงเนื่องจากมีฤทธิ์ด้านจุลชีพมากกว่า และพบว่าคลอร์เฮกซิดีน สามารถยับยั้งการเจริญของ *Enterococcus faecalis* ได้ (Gomes *et al.*, 2003; Schafer *et al.*, 2005)

ในการใช้งานเอ็มทีเอ หากสามารถปรับปรุงให้มีฤทธิ์ด้านจุลชีพที่มากขึ้น จะเป็นประโยชน์แก่การนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก โดยเฉพาะกับ *Enterococcus faecalis* ที่มักไม่ตอบสนองกับการรักษาคคลองรากฟันซึ่งมักพบในคลองรากฟันที่ติดเชื้อเรื้อรังหรือคลองรากฟันที่รักษาล้มเหลว (Sundqvist *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างการด้านฤทธิ์จุลชีพที่เกิดจากการผสมเอ็มทีเอ กับ สารละลายคลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.12 กับ ร้อยละ 2

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารผสมระหว่าง มินเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกริเกต และ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต ร้อยละ 0.12 และ ร้อยละ 2 ในการต้านเชื้อจุลชีพ *Enterococcus faecalis* ในภาวะเทียมนอกกาย

วิธีการวิจัย

ดัดแปลงจากวิธีการของ Stowe *et al.* (2004)

การเตรียมชิ้นงานทดสอบ

เตรียมเบ้าซิลิโคนรูปทรงกระบอกกลวงเส้น

ผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร สูง 4 มิลลิเมตร จำนวน 30 เบ้า เพื่อใช้บรรจุ เอ็มทีเอ หรือสารผสมเอ็มทีเอกับ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนตผสมผงเอ็มทีเอกับน้ำกลั่น หรือ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.12 หรือ 2 ตามอัตราส่วน 3:1 คือ ส่วนผง 150 มิลลิกรัม ส่วนเหลว 50 ไมโครลิตร ผสมโดยใช้พายผสมซีเมนต์ (cement spatula) โดยผสมบนแท่งแก้ว (glass slab) นำใส่ในเบ้าซิลิโคนซึ่งวางอยู่บนกระดาษมัน โดยใช้เครื่องนำอะมัลกัม (amalgam carrier) ใส่ส่วนผสมจนเต็มเบ้ากดให้เต็มด้วยเครื่องมืออุดอะมัลกัม (amalgam plugger) วางสำลีปราศจากเชื้อชุบน้ำกลั่นหมาดบนเบ้าซิลิโคนและนำเบ้าที่มีสารผสมทั้งหมดเข้าตู้อบในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 100 เป็นเวลา 4, 24, 96 ชั่วโมง ตามลำดับ

การเตรียมเชื้อทดสอบ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

เชื้อที่ใช้ทดสอบคือ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion broth ปริมาตร 5 มิลลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำมาเปรียบเทียบกับความขุ่นกับ หลอดความขุ่นมาตรฐานให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 4 McFarland เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Brain Heart Infusion agar ปราศจากเชื้อ ปริมาณ 19 มิลลิตร โดยต้มให้เหลว ตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นและผสมเข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว 1 มิลลิตร ที่เตรียมไว้แล้ว เทลงในจานเพาะเชื้อให้ความหนาของวุ้นสม่ำเสมอประมาณ 4 มิลลิเมตร แล้วเจาะรูที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่แข็งแล้วให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ด้วยพาสเจอร์ไพเปต (Pasteur pipette) เป็นจำนวน 3 รู ต่อ จานเพาะเชื้อ 1 ใบ ให้มีระยะห่างจากขอบของจานเพาะเชื้อเท่า ๆ กัน เขียนหมายเลขกำกับไว้ใต้จานเพาะเชื้อ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 (ทำในงานเพาะเชื้อ 10 ใบ)

หมายเลข 1 คือ ผงเอ็มทีเอ 150 มิลลิกรัม ผสมกับ น้ำกลั่น ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่ผสมเสร็จแล้ว 4 ชั่วโมง

หมายเลข 2 คือ ผงเอ็มทีเอ 150 มิลลิกรัม ผสมกับ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต เข้มข้นร้อยละ 0.12 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่ผสมเสร็จแล้ว 24 ชั่วโมง

หมายเลข 3 คือ ผงเอ็มทีเอ 150 มิลลิกรัม ผสมกับ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต เข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่ผสมเสร็จแล้ว 96 ชั่วโมง

กลุ่มที่ 2 (ทำในงานเพาะเชื้อ 5 ใบ)

หมายเลข 1 คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

หมายเลข 2 คือ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต เข้มข้นร้อยละ 0.12 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

หมายเลข 3 คือ คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต เข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

นำสารผสมที่แข็งตัวแล้วใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่เจาะรูแล้วด้วยเครื่องมือปลอดเชื้อ แล้วทำการบ่มเพาะเชื้อในสภาวะปราศจากออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การแปลผล

เขตยับยั้ง (Inhibition zone) คือ ค่าเฉลี่ยที่เกิดจากเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) ในแนวตั้งและแนวนอนที่ตั้งฉากกันของวงใสรอบสิ่งทดสอบบนอาหารแข็ง โดยเขตยับยั้งจะวัดโดยผู้ประเมินที่ไม่ใช่ผู้ทำการทดลอง (Blind technique) วัดโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Vernier Caliper) และบันทึกผลเป็นค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งมีหน่วยเป็นมิลลิเมตรทศนิยม 2 ตำแหน่ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเขตยับยั้ง โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวครัสคาล-วอลลิส (Kruskal-Wallis test) นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ผลการวิจัย

การทดสอบการต้านจุลชีพ *Enterococcus faecalis* ในกลุ่มทดลอง (รูปที่ 1) พบว่าสารผสมระหว่างเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถทำให้เกิดเขตยับยั้งโดยมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14.63 ± 1.93 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1) ในขณะที่สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 และสารผสมระหว่างเอ็มทีเอและน้ำกลั่น ไม่ทำให้เกิดเขตยับยั้ง พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างตัวอย่างทั้งสาม ($p=0.000$) เมื่อจับคู่เปรียบเทียบ 2 ตัวอย่างที่ไม่เกิดเขตยับยั้งพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง

สารผสมเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.12 และ สารผสมเอ็มทีเอและน้ำกลั่น ($p=1.000$)

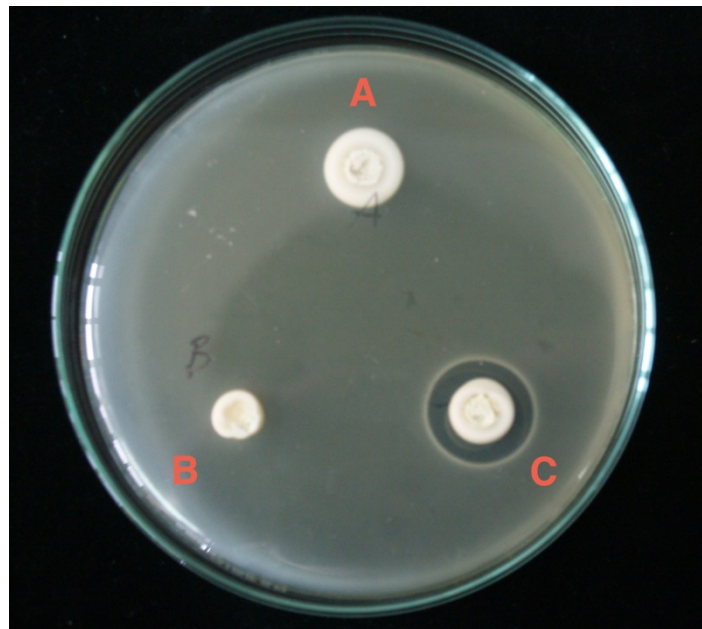
ในกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2) พบว่า คลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 2 เกิดเขตยับยั้งเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.04 ± 0.96 มิลลิเมตร คลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.12 เกิดเขตยับยั้งเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16.02 ± 0.77 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) โดยที่น้ำกลั่นไม่ทำให้เกิดเขตยับยั้ง พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.002$) เมื่อทดสอบจับคู่เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นคู่ ระหว่าง คลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 0.12 ด้วยวิธีผลต่างที่มีนัยสำคัญอย่างซื่อสัตย์ของทูกีย์ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p=0.009$)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของเขตยับยั้งในกลุ่มทดลองต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis*

งานเพาะเชื้อที่	สารผสมระหว่างเอ็มทีเอ และน้ำกลั่น (มม.)	สารผสมระหว่างเอ็มทีเอ และ คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 (มม.)	สารผสมระหว่างเอ็มทีเอ และ คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2 (มม.)
1	0	0	17.50
2	0	0	15.00
3	0	0	17.25
4	0	0	15.00
5	0	0	12.95
6	0	0	13.80
7	0	0	14.95
8	0	0	15.75
9	0	0	12.13
10	0	0	11.96
ค่าเฉลี่ยรวม	0	0	14.63 ± 1.93

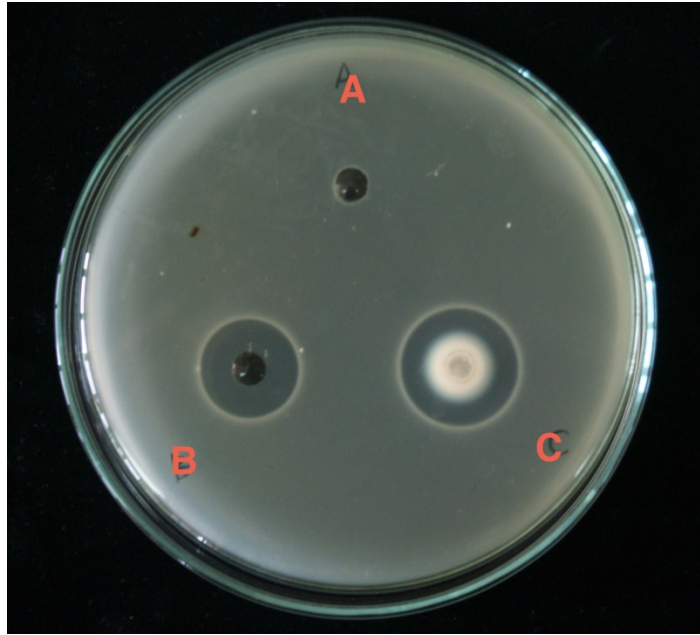
ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของเขตยับยั้งในกลุ่มควบคุมต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis*

จานเพาะเชื้อที่	น้ำกลั่น (มม.)	คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 (มม.)	คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2 (มม.)
1	0	16.25	19.00
2	0	16.50	20.00
3	0	16.75	20.00
4	0	15.80	17.90
5	0	14.79	18.32
ค่าเฉลี่ยรวม	0	16.02±0.77	19.04±0.96



รูปที่ 1 เขตการยับยั้งของสารทดสอบในกลุ่มทดลองต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis*

- A: สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและน้ำกลั่น
- B: สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12
- C: สารผสมระหว่างเอ็มทีเอและคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2



รูปที่ 2 เขตการยับยั้งของสารทดสอบในกลุ่มควบคุมต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis*

A: น้ำกลั่น

B: สารละลายคลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต ร้อยละ 0.12

C: สารละลายคลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต ร้อยละ 2

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานำร่อง (Pilot study) พบว่า ภายหลังผสมสารเสร็จใหม่ ๆ สารผสมระหว่างเอมทิโอ และน้ำกลั่น ไม่สามารถทำให้เกิดเขตยับยั้ง แต่สารผสมเอมทิโอกับคลอร์เฮกซิดีนเข้มข้นร้อยละ 0.12 สารผสมเอมทิโอกับคลอร์เฮกซิดีนเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถสร้างเขตยับยั้งต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ ในขณะที่เดียวกันพบว่าเกิดการปนเปื้อน (contamination) อย่างมาก เนื่องจากขั้นตอนการนำสารผสมเข้าไปใส่ในแต่ละหลุมของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ไม่สามารถทำได้ในครั้งเดียวและต้องใช้เวลาในการทำต้องเปิดจานเพาะเชื้อหลายครั้ง จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนขึ้น และเพื่อทดสอบว่าสารที่ผสมกันแล้วมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลชีพได้จริงโดยปราศจากผลดบัง (confounding effect) การยับยั้งจุลชีพจากคลอร์เฮกซิดีนซึ่งผสมเสร็จใหม่ ๆ ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้สารผสมที่แข็งตัวแล้วในการทดสอบ ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า เอมทิโอที่ผสมน้ำกลั่นจะเริ่ม

แข็งตัวประมาณ 4 ชั่วโมง เมื่อผสมกับ คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 จะเริ่มแข็งตัวประมาณ 24 ชั่วโมง และเมื่อผสมกับ คลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2 จะเริ่มแข็งตัวประมาณ 96 ชั่วโมง

จากการทดลองพบว่า มีสารผสมชนิดเดียวที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ คือ เอมทิโอที่ผสมกับคลอร์เฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 2 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Holt *et al.*, 2007) ในขณะที่เอมทิโอที่ผสมน้ำกลั่นไม่ก่อให้เกิดเขตยับยั้งเลย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Torabinejad *et al.*, 1995; Estrela *et al.*, 2000) แต่ก็ขัดแย้งกับบางการศึกษาเช่นกัน (Al-Nazhan *et al.*, 2003; Sipert *et al.*, 2005; Al-Hezaimi *et al.*, 2006; Al-Hezaimi *et al.*, 2006; Asgary *et al.*, 2008; Al-Hezaimi *et al.*, 2009) อาจอธิบายได้ว่าสถานะของเอมทิโอที่ใช้ในการทดสอบอาจมีผลต่อคุณสมบัติด้านจุลชีพ เนื่องจากในการศึกษานี้เป็นเอมทิโอที่ผสมกับน้ำกลั่นซึ่งแข็งตัวแล้ว 4 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง ปฏิบัติการไฮดรชันซึ่งก่อให้เกิด

แคลเซียม ไฮดรอกไซด์ (Camilleri *et al.*, 2005) ที่มีคุณสมบัติเป็นด่างและยับยั้งเชื้อได้ อาจเหลือน้อยหรือสิ้นสุดลง ณ เวลาที่ทำการทดลอง ตรงกันข้ามกับการศึกษาในอดีต ซึ่งใช้เอมทิโอที่ผสมกับน้ำกลั่นทันทีในการทดสอบคุณสมบัติการต้านจุลชีพ ซึ่งปฏิริยาไฮดรเจนเพ่งเริ่มต้นขึ้น จึงอาจมีส่วนช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ในการศึกษาเหล่านั้น

ในขณะที่สารผสมระหว่างเอมทิโอและคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้นร้อยละ 0.12 ไม่ก่อให้เกิดเขตยับยั้งในการศึกษานี้ จึงขัดแย้งกับการศึกษาก่อนหน้า (Stowe *et al.*, 2004) ซึ่งการนำคลอร์เฮกซิดีนมาผสมกับเอมทิโอน่าจะช่วยให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้มากขึ้น แต่การศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับน้ำกลั่นซึ่งเป็นตัวควบคุมลบ ซึ่งอาจเป็นเพราะ โอกาสของคลอร์เฮกซิดีนที่ถูกผสมเข้าไปกับเอมทิโอและแข็งตัวแล้ว ไม่เกิดการแพร่เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง เขตยับยั้งจึงไม่เกิดขึ้น ซึ่งแตกต่างกับ สารผสมระหว่างเอมทิโอและคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น ร้อยละ 2 ซึ่งแม้จะใช้เวลาอย่างน้อย 96 ชั่วโมงในการเริ่มแข็งตัว แต่พบว่าในขณะทดสอบชิ้นงานบางส่วนแตกหักระหว่างนำไปใส่ในหลุมของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง แสดงว่ายังแข็งตัวไม่เต็มที่ สารละลายคลอร์เฮกซิดีนจึงอาจมีโอกาสรั่วเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งและทำให้เกิดเขตยับยั้งขึ้น

จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่า ส่วนประกอบที่ทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecalis* คือ สารละลายคลอร์เฮกซิดีน ที่ถูกผสมเข้าไป อย่างไรก็ตามด้วยข้อจำกัดของการศึกษา สถานะของสารผสมก็เป็นปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญที่อาจลดหรือเพิ่มประสิทธิภาพการต้านจุลชีพได้ โดยสารผสมระหว่างเอมทิโอและน้ำกลั่น และ สารผสมระหว่างเอมทิโอและคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 0.12 ไม่ทำให้เกิดเขตยับยั้ง สารผสมระหว่างเอมทิโอและคลอร์เฮกซิดีน ร้อยละ 2 ทำให้เกิดเขตยับยั้งโดยให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 14.63 ± 1.93 มิลลิเมตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ทพญ. เสมอจิต พิธพรชัยกุล ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน ผู้ให้คำปรึกษาด้านการวิเคราะห์สถิติ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทพญ. ศรีสุรางค์ สุทธิปริยาศรี ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยกลาง และขอขอบคุณ คุณเขมรัฐ เขมวงศ์ เจ้าหน้าที่และนักวิจัยประจำศูนย์วิจัยกลางผู้ให้คำแนะนำด้านเทคนิคในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Al-Hezaimi, K., T. A. Al-Shalan, *et al.*, 2006. Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis* in vitro. *Journal of endodontics* 32(11): 1053-1056.
- Al-Hezaimi, K., T. A. Al-Shalan, *et al.*, 2009. MTA preparations from different origins may vary in their antimicrobial activity. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 107(5): e85-88.
- Al-Hezaimi, K., J. Naghshbandi, *et al.*, 2006. Comparison of antifungal activity of white-colored and gray-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *Candida albicans*. *Journal of endodontics* 32(4): 365-367.
- Al-Nazhan, S. and A. Al-Judai 2003. Evaluation of antifungal activity of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics* 29(12): 826-827.

- Asgary, S. and F. A. Kamrani 2008. Antibacterial effects of five different root canal sealing materials. *Journal of oral science* 50(4): 469-474.
- Camilleri, J., F. E. Montesin, *et al.*, 2005. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater* 21(4): 297-303.
- Estrela, C., L. L. Bammann, *et al.*, 2000. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J* 11(1): 3-9.
- Ford, T. R., M. Torabinejad, *et al.*, 1995. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 79(6): 756-763.
- Gomes, B. P., S. F. Souza, *et al.*, 2003. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *International endodontic journal* 36(4): 267-275.
- Holt, D. M., J. D. Watts, *et al.*, 2007. The antimicrobial effect against *enterococcus faecalis* and the compressive strength of two types of mineral trioxide aggregate mixed with sterile water or 2% chlorhexidine liquid. *Journal of endodontics* 33(7): 844-847.
- Kogan, P., J. He, *et al.*, 2006. The effects of various additives on setting properties of MTA. *Journal of endodontics* 32(6): 569-572.
- Sarkar, N. K., R. Caicedo, *et al.*, 2005. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics* 31(2): 97-100.
- Schafer, E. and K. Bossmann 2005. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics* 31(1): 53-56.
- Sipert, C. R., R. P. Hussne, *et al.*, 2005. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *International endodontic journal* 38(8): 539-543.
- Stowe, T. J., C. M. Sedgley, *et al.*, 2004. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics* 30(6): 429-431.
- Sundqvist, G., D. Figdor, *et al.*, 1998. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 85(1): 86-93.
- Torabinejad, M., C. U. Hong, *et al.*, 1995. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *Journal of endodontics* 21(12): 603-608.
- Torabinejad, M., C. U. Hong, *et al.*, 1995. Tissue reaction to implanted super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *Journal of endodontics* 21(11): 569-571.
- Torabinejad, M., C. U. Hong, *et al.*, 1995. Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of endodontics* 21(8): 403-406.

Torabinejad, M., A. F. Rastegar, *et al.*, 1995.
Bacterial leakage of mineral trioxide
aggregate as a root-end filling material.
Journal of endodontics 21(3): 109-112.

Torabinejad, M., T. F. Watson, *et al.*, 1993. Sealing
ability of a mineral trioxide aggregate when
used as a root end filling material. Journal
of endodontics 19(12): 591-595.