ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่พี-เอช ต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนในห้องปฏิบัติการ

นางสาวกิตติยา สัจจะปกาสิต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ
คณะทันตแพทศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546
ISBN 974-17-3485-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE AT DIFFERENT PH ON AEROBIC AND ANAEROBIC BACTERIA IN VITRO

Miss Kittiya Satjapagasit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Endodontics
Department of Operative Dentistry
Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University
Academic Year 2003

ISBN 974-17-3485-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ พี-เอชต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ออกซิเจน และไม่ใช้ออกซิเจนในห้องปฏิบัติการ
โดย	นางสาวกิตติยา สัจจะปกาสิต
สาขาวิชา	วิทยาเอ็นโดดอนต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คูวัฒนสุชาติ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.อัญชนา พานิชอัตรา

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง คุณเมตตจิตต์ นวจินดา)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คูวัฒนสุชาติ)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. อัญชนา พานิชอัตรา)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สมไชย ลิ้มสมบัติอนันต์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติยา สัจจะปกาสิต : ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ พี-เอช ต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนในห้องปฏิบัติการ (THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE AT DIFFERENT PH ON AEROBIC AND ANAEROBIC BACTERIA IN VITRO)
อ. ที่ปรึกษา : รศ.ทพ.สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ทพ.จินตกร คูวัฒนสุชาติ, ผศ.ทพญ. ดร.อัญชนา พานิชอัตรา 93 หน้า. ISBN 974-17-3485-9.

แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาใส่ในคลองรากฟันที่นิยมใช้กันมากที่สุด เนื่องจากประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีซึ่งสัมพันธ์กับความเป็นด่างที่สูง แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อหลายประการที่ทำให้ความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่อยู่ในระดับที่สามารถทำลายเชื้อได้ นอกจากนั้นเชื้อแต่ละชนิดยังมีความทนทานต่อความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกันไป การศึกษาในห้องปฏิบัติการครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Porphylomonas gingivalis* *Actinomyces viscosus* *Streptococcus mitis* *Staphylococcus aureus* และ *Enterococcus faecalis* โดยทดสอบกับปริมาณของแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่จากการขยายคลองรากฟัน (10^3 โคโลนี) พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่มีผลในการทำลายเชื้อ *Actinomyces viscosus* และ *Streptococcus mitis* คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 โดยใช้เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Porphylomonas gingivalis* คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 โดยใช้เวลา 12 ชั่วโมง และที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลา 6 ชั่วโมง นอกจากนั้นพบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ถูกทำลายที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุดคือที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ทันตกรรมหัตถการ
สาขาวิชา วิทยาเอ็นโดดอนต์
ปีการศึกษา 2546

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
.....

4476102432 : MAJOR ENDODONTICS

KEY WORD: Calcium hydroxide / *Porphyromonas gingivalis* / *Actinomyces viscosus* / *Staphylococcus aureus* / *Enterococcus faecalis* / pH-levels / Antimicrobial effect /

KITTIYA SATJAPAGASIT : THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE AT DIFFERENT PH ON AEROBIC AND ANAEROBIC BACTERIA IN VITRO. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.SURASITH KIATPONGSAN, THESIS COADVISOR : ASSOC.PROF.JINTAKORN CUVATANASUCHATI, ASSIST. PROF. DR. ANCHANA PANITCHAUTTRA, 93 pp. ISBN 974-17-3485-9

Calcium hydroxide is one of the most effective antimicrobial agent due to its highly alkaline properties. However, there efficacy is limited due to reduced alkaline. Furthermore, each bacterial strain tolerates in different pH level. The objective of this study was to determine the antimicrobial effect of calcium hydroxide at different pH levels on *Porphylomonas gingivalis Actinomyces viscosus Streptococcus mitis Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* by testing with quantity of bacteria after root canal instrumentation (10^3 cfu.). The result of this study shown that the pH higher than 10.50 after 6 and 12 hours incubation had and antimicrobial effect on *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mitis* respectively. Whereas *Staphylococcus aureus* and *Porphylomonas gingivalis* reported the pH at 10.50, 12 hours and 11.00 at 6 hours. In addition *Enterococcus faecalis* reported the highest pH (higher than 11.50 at 24 hours).

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department Operative dentistry
Field of study Endodontics
Academic year 2003

Student's signature……..
Advisor's signature …….
Co-advisor's signature …….
……

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คูวัฒนสุชาติ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. อัญชนา พานิชอัตรา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง เจนจิรา ถิรวัฒน์ ที่ได้ให้ความรู้ แนวความคิด ตลอดจนข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยรวมทั้งยังให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์จนเป็นที่เรียบร้อย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาทันตกรรมหัตถการ ภาควิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีวเคมี ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ ศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ ที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ทันตแพทย์หญิง เกศรา ปัทมพันธุ์ นิสิตปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาช่องปาก ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยเหลือ อนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย รวมถึงให้ความรู้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้การสนับสนุนการลาศึกษาในครั้งนี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา และมารดา รวมทั้งขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ได้ให้กำลังใจมาตลอดในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ประโยชน์และความรู้ที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ทุก ๆ ท่าน ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…….. ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….. จ

กิตติกรรมประกาศ…… ฉ

สารบัญ…… ช

สารบัญตาราง…….. ญ

สารบัญภาพ…… ฐ

บทที่

1 บทนำ…… 1

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง…….. 5

2.1 สาเหตุการอักเสบของเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่อปลายรากฟัน…… 5

2.2 อุบัติการณ์การพบแบคทีเรียชนิดต่างๆ ในคลองราก…… 6

2.3 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์ Black-pigmented-*Bacteroides*…… 8

2.4 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์ *Actinomyces*…….. 9

2.5 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์ *Staphylococcus aureus*…….. 11

2.6 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์ *Streptococci*……... 11

2.7 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์ *Enterococcus faecalis*…….…… 11

2.8 ประสิทธิภาพของการขยายคลองรากฟัน…….. 12

2.9 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์…….. 12

2.10 การไม่มีประสิทธิภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์…… 13

3. วิธีดำเนินการวิจัย…….. 17

3.1 ประชากรและตัวอย่าง…… 17

3.2 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง…… 18

3.3 วิธีการทดลอง…… 20

3.3.1 การเตรียมแบคทีเรียและการเพาะเลี้ยงเชื้อ…….. 20

3.3.2 การเตรียมปริมาณของแบคทีเรีย…….. 21

3.3.3 การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัว…….. 23

หน้า

3.3.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ กัน..... 25
3.3.5 การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่างๆ หลังจากทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 26
4. ผลการทดลอง..... 29
4.1 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus* และผลการฆ่าเชื้อ หลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ..... 29
4.2 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. mitis* และผลการฆ่าเชื้อ หลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ..... 31
4.3 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *E. faecalis* และผลการฆ่าเชื้อ หลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ..... 33
4.4 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. aureus* และผลการฆ่าเชื้อ หลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ..... 35
4.5 ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *P. gingivalis* และผลการฆ่าเชื้อ หลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ..... 37
4.6 ผลการย้อมกรัมของเชื้อ..... 38
5. อภิปรายผลการทดลอง สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 39
5.1 อภิปรายผลการทดลอง..... 40
5.2 สรุปผลการทดลอง..... 55
5.3 ข้อเสนอแนะ..... 56
รายการอ้างอิง..... 57

หน้า

ภาคผนวก..... 67
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 94

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตารางแสดงชนิดของแบคทีเรียจากคลองรากฟันที่มีพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน... 6

ตารางที่ 2 ตารางแสดงความชุกของแบคทีเรียสายพันธุ์ Black-pigmented-*Bacteroides*.... 8

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี /มิลลิลิตร..... 29

ตารางที่ 4 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 30

ตารางที่ 5 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี /มิลลิลิตร..... 31

ตารางที่ 6 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 32

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี /มิลลิลิตร..... 33

ตารางที่ 8 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 34

ตารางที่ 9 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี /มิลลิลิตร..... 35

ตารางที่ 10 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 36

หน้า

ตารางที่ 11 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี /มิลลิลิตร..... 37

ตารางที่ 12 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว..... 38

ตารางที่ 13 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *A. viscosus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 68

ตารางที่ 14 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. mitis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 68

ตารางที่ 15 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 68

ตารางที่ 16 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 69

ตารางที่ 17 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *P. gingivalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 69

ตารางที่ 18 ตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัวที่เวลา 0 ถึง 14 วัน..... 70

ตารางที่ 19 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี / มิลลิลิตร ที่ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 71

ตารางที่ 20 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี / มิลลิลิตร ที่ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 73

ตารางที่ 21 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี / มิลลิลิตร ที่ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 75

ตารางที่ 22 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี / มิลลิลิตร

หน้า

ที่ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 77
ตารางที่ 23 ตารางแสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี / มิลลิลิตร ที่ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 79
ตารางที่ 24 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 81
ตารางที่ 25 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 83
ตารางที่ 26 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 85
ตารางที่ 27 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 87
ตารางที่ 28 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง..... 89

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ภาพแสดงชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้โดยนักวิจัยในตัวอย่างจากคลองรากฟัน ที่มีการตายของเนื้อเยื่อใน..... 6
รูปที่ 2 ภาพแสดงระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของเชื้อ *E. faecalis* สายพันธุ์ NCTC 775 16
รูปที่ 3 ภาพแสดงจาร์เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนและก๊าซสำหรับเลี้ยงเชื้อ..... 21
รูปที่ 4 ภาพแสดงเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์..... 22
รูปที่ 5 ภาพแสดงเครื่องอัลตราไวโอเลต สำหรับทำแคลเซียมไฮดรอกไซด์ให้ปราศจากเชื้อ.. 23
รูปที่ 6 ภาพแสดงเครื่องพี-เอช มิเตอร์..... 24
รูปที่ 7 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ อิ่มตัวที่เวลา 0 ถึง 14 วัน..... 46
รูปที่ 8 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. viscosus*..... 91
รูปที่ 9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *S. mitis*..... 91
รูปที่ 10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis*..... 92
รูปที่ 11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *S. aureus*..... 92
รูปที่ 12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *P. gingivalis*..... 93

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาเหตุที่พบได้บ่อยของการอักเสบของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันคือเชื้อแบคทีเรีย ความรุนแรงของการอักเสบขึ้นอยู่กับความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด สภาพของเนื้อเยื่อใน และภูมิต้านทานของร่างกาย (Dahlen และ Moller, 1992)

การอักเสบของเนื้อเยื่อในโพรงฟันนำไปสู่การเพิ่มการซึมได้ของหลอดเลือด การขยายตัวของหลอดเลือด การละลายเนื้อเยื่อแข็ง และการตายของเนื้อเยื่อใน (Baumgartner และ Hutter, 2002) การตายของเนื้อเยื่อใน นำไปสู่การลดลงของออกซิเจน และการเพิ่มขึ้นของสารอาหาร ซึ่งเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิด พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในคลองรากฟัน ได้แก่ *Fusobacterium nucleatum* *Streptococcus* และ *Bacteroides* (Sundqvist, 1994) ดังนั้นวัตถุประสงค์สำคัญของการรักษาคลองรากฟัน คือกำจัดการติดเชื้อและป้องกันการติดเชื้อซ้ำ

การรักษาคลองรากฟันประกอบด้วยขั้นตอนหลายขั้นตอน ได้แก่การเปิดทางเข้าสู่เนื้อเยื่อในโพรงฟัน การกำจัดเนื้อเยื่อในที่ติดเชื้อ การขยายคลองรากฟัน อย่างไรก็ตามพบว่าการขยายคลองรากฟันเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อทั้งหมดในคลองรากฟันให้หมดไปได้ ดังนั้นฟันที่มีการอักเสบบริเวณปลายรากฟันจึงมีความจำเป็นต้องใส่ยาในคลองรากฟันระหว่างการนัด เพื่อกำจัดหรือลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ภายในคลองรากฟัน (Bystrom และ Sundqvist,1981)

ปัจจุบันยาที่ใส่ในคลองรากฟันมีหลายชนิด วัตถุประสงค์ของการใช้ส่วนใหญ่คือการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน (Chong และ Pittford, 1992 ; Doran และ Radke, 1998) หนึ่งในจำนวนนี้พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นด่างสูง (Heithersay, 1975) ทำให้แบคทีเรียหลายชนิดในคลองรากฟัน ถูกกำจัดไปอย่างรวดเร็ว (Bystrom, Claesson และ Sundqvist, 1985)

ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีความสัมพันธ์กับการปลดปล่อยไฮดรอกซิลอิออน (hydroxyl ions ; OH^-) อิออนชนิดนี้เป็นประจุอิสระที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลหลายชนิด (Siqueira และ Lopes, 1999) อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาหลายการศึกษารายงานถึงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ

แบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ลดลง (Heling และคณะ, 1992 ; Siqueira และ Uzeda, 1996 ; Haapasalo และ Orstavik, 1987)

มีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ลดลงได้แก่

1) การสูญเสียประสิทธิภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกิดจากของเหลวจากเนื้อเยื่อ เลือด และเอกซูเดท ที่เกิดจากปฏิกิริยาการอักเสบบริเวณปลายราก (Cohen และ Lasfargues, 1988) เนื่องจากการแลกเปลี่ยนของของเหลวเหล่านี้บริเวณผิวหน้าของแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะทำให้ความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ลดลงอย่างรวดเร็ว
2) การลดลงของความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เกิดจากความสามารถในการบัฟเฟอร์ (buffer) ของเนื้อฟัน มีรายงานพบว่าเนื้อฟันมีความสามารถในการบัฟเฟอร์เนื่องจากการมีโปรตอน (proton) เช่น ไฮโดรเจนฟอสเฟตอิออน (hydrogenphosphate ions ; $H_2PO_4^-$) ไฮโดรเจนคาร์บอเนต (hydrogencarbonate ; H_2CO_3) และไฮโดรเจนคาร์บอเนตอิออน (hydrogencarbonate ions ; HCO_3^-) ในชั้นของไฮดรอกซิลแอปพาไตท์ (hydroxylappatite) ซึ่งจะให้โปรตอนตลอดเวลาจึงทำให้ความเป็นด่างลดลง (Wang และ Hume, 1988)
3) เวลาที่ใช้ในการใส่ยาโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะมีผลในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ต้องมีเวลาเพียงพอที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะสัมผัสกับเชื้อในคลองรากฟัน (Sjogren และคณะ, 1991)
4) เชื้อแบคทีเรียที่เกาะกลุ่มกันอยู่ที่ผนังคลองรากฟัน และเนื้อเยื่อที่ตายแล้วในแขนงคลองรากฟันหรือส่วนคอดของคลองรากฟันยังคงสามารถดำรงชีวิตได้ เนื่องจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถออกฤทธิ์เข้าไปถึงในบริเวณเหล่านี้ (Siqueira และ Uzeda, 1996)

นอกจากนั้นยังพบว่า เชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์มีความสามารถในการทนทานต่อความเป็นกรด-ด่างในช่วงที่กว้าง แต่ส่วนใหญ่แล้วพบว่าเชื้อแบคทีเรียในช่องปากจะเติบโตได้ดีในช่วงความเป็น กรด-ด่าง 6-9 (Padan, Zilberstein และSchuldiner, 1981) เชื้อราสามารถเติบโตได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 5-9 *Prevotella intermedia Fusobacterium nucleatum* และ *Porphyromonas gingivalis* เจริญเติบโตคงที่ในช่วงความเป็นด่าง (ประมาณ 8-8.3) (Marsh, McKee และ McDermid, 1993) *Enterococci* บางชนิดทนทานได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่สูง (ประมาณ 11.5) (Bystrom และ Sundqvist , 1985)

มีการศึกษาหลายการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทั้งในสิ่งมีชีวิต และห้องปฏิบัติการ (Andersen และคณะ, 1992 ; Barbosa และคณะ, 1997 ; Bystrom, Chaesson และ Sundqvist, 1985) การศึกษาเหล่านี้พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เกือบทุกสายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม นักวิจัยส่วนใหญ่มักจะศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นด่างที่สูงที่สุด (ประมาณ 12.4-12.6) (Barbosa และคณะ, 1997 ; Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou, 1993) ระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถฆ่าเชื้อได้มีการศึกษาเพียงไม่กี่การศึกษา นอกจากนั้นการศึกษาที่ผ่านมา นักวิจัยมักใช้ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียจำนวนมาก ซึ่งไม่สามารถจำลองสถานการณ์จริงในคลินิกได้ (Behnen และคณะ, 2001 ; Bystrom, Claesson และ Sundqvist, 1985 ; Estrela และคณะ, 1998 ; Estrela และคณะ, 2001 ; Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou, 1993)

ดังนั้นจุดมุ่งหมายของการวิจัยคือการศึกษาผลในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อแบคทีเรีย ที่พบได้บ่อยในคลองรากฟัน ผลของการศึกษาครั้งนี้สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับ ผลในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุด และเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับการศึกษาต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็น กรด-ด่าง ต่าง ๆ ต่อเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* *Actinomyces viscosus* *Streptococcus mitis* *Enterococcus faecalis* และ *Staphylococcus aureus*

ประโยชน์ของการวิจัย

1. การศึกษานี้จะให้ข้อมูลเกี่ยวกับผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำที่สุดต่อเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในคลองราก
2. เป็นความรู้พื้นฐานและเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาต่อไปในอนาคต เช่น พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเป็นกรด-ด่าง ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟัน

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. เชื้อ *Porphylomonas gingivalis* *Actinomyces viscosus* *Streptococcus mitis* *Enterococcus faecalis* และ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อยในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อ และมีพยาธิสภาพปลายราก

2. ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย 10^3 โคโลนี ที่ใช้ในการทดลองนี้ มีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันหลังจากทำการขยายคลองรากฟันแล้ว

ความไม่สมบูรณ์ของการวิจัย

เชื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในคลองราก แต่ยังมิใช่เชื้อที่พบได้บ่อยมากที่สุด เชื้อแบคทีเรียตัวอื่นที่สนใจ และต้องการนำมาศึกษา ได้แก่ *Fusobacterium nucleatum* *Porphyromonas endodontalis* *Prevotella intermedia* *Actinomyces israelii* หรือ *Streptococcus anginosus* แต่เนื่องจากอุปกรณ์และเครื่องมือในการเพาะแยกเชื้อเหล่านี้มีไม่เพียงพอ จึงเป็นข้อจำกัดให้ไม่สามารถนำเชื้อเหล่านี้มาทำการวิจัยได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

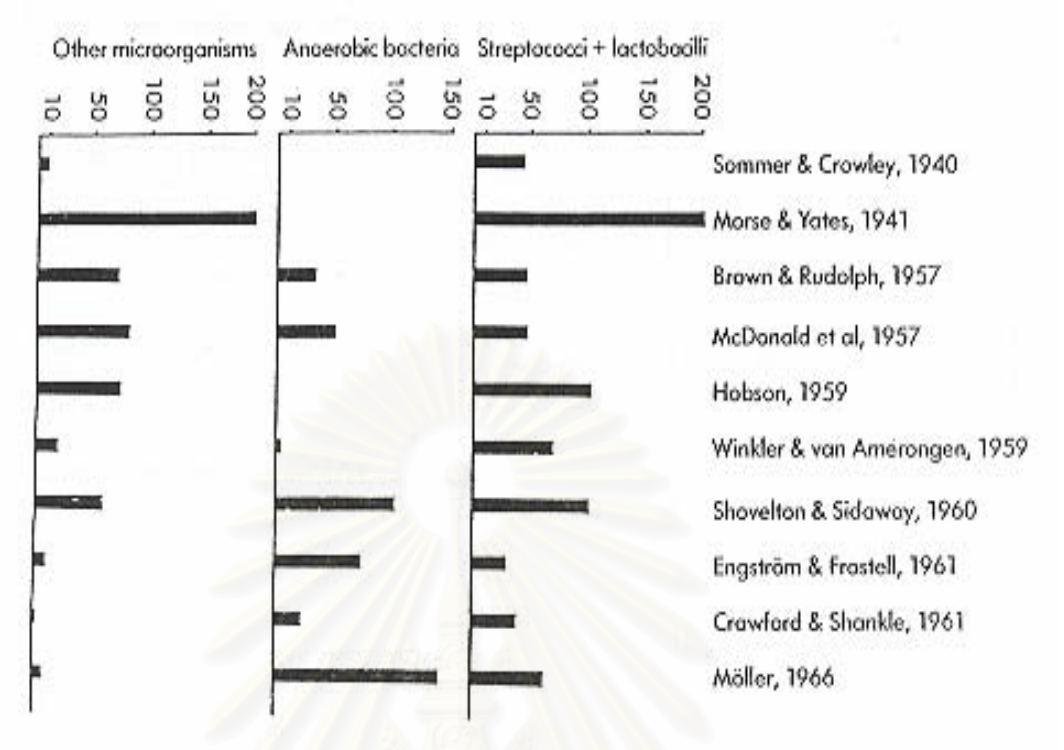
การติดเชื้อของเนื้อเยื่อในโพรงฟันมักเกิดจากฟันผุ การได้รับบาดเจ็บที่ฟัน หรืออาจเป็นผลตามจากการที่มีการรั่วรอบๆวัสดุบูรณะฟัน สาเหตุที่พบได้บ่อยของการติดเชื้อที่ฟันคือแบคทีเรีย ในที่สุดถ้าการติดเชื้อรุนแรงขึ้นจะนำไปสู่การตายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และการเกิดพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน (Bergenholtz, 1990)

ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน และการเกิดพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน มีการศึกษาเป็นจำนวนมาก การศึกษาของ Kakehashi, Stanley และ Fitzgerald (1965) แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อในโพรงฟันที่เกิดการทะลุของหนูที่เลี้ยงตามปกติ และหนูที่ทำให้ปราศจากเชื้อ พบว่าเกิดพยาธิสภาพบริเวณเนื้อเยื่อในโพรงฟันและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันในหนูที่เลี้ยงตามปกติ แต่ไม่พบพยาธิสภาพในหนูที่ปราศจากเชื้อ นอกจากนั้น Moller และคณะ (1981) ทำการศึกษาเนื้อเยื่อในโพรงฟันของลิงที่ปราศจากเชื้อและมีการติดเชื้อ พบว่าเนื้อเยื่อในโพรงฟันที่ปราศจากการติดเชื้อไม่สามารถชักนำให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบบริเวณเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันได้ ในขณะที่ฟันที่มีการติดเชื้อพบการอักเสบทั้งในทางคลีนิกและภาพถ่ายรังสี

อย่างไรก็ตามมีผู้ทำการศึกษาในภายหลัง พบว่าคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อสายพันธุ์เดียวในหนูที่ปราศจากเชื้อจะชักนำให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบน้อยกว่าคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อหลายชนิด ทั้งปริมาณของเชื้อและระยะเวลาที่เกิดการติดเชื้อ มีความสำคัญต่อผลที่เกิดขึ้น (Korzen, Krakow และ Green, 1974) ผลผลิตที่ทำให้เกิดความระคายเคืองจากเชื้อแบคทีเรีย สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบได้ ดังนั้นการรักษาคลองรากฟันส่วนใหญ่จึงมุ่งเน้นทั้งในทางตรงและทางอ้อมที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันการติดเชื้อและการติดเชื้อซ้ำ

การติดเชื้อในคลองรากฟันส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อหลายชนิดร่วมกัน (Sundqvist, 1994) ก่อนปี ค.ศ. 1970 สามารถพบเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในคลองรากฟันเพียงไม่กี่สายพันธุ์ เนื่องจากวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อยังไม่พัฒนาเพียงพอ แต่ในปัจจุบันนี้พบว่าเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในคลองรากฟัน เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน

รูปที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้โดยนักวิจัยหลายคน ในตัวอย่างจากคลองรากฟันที่มีการตายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (Dahlen และ Moller, 1992) และตารางที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากคลองรากฟันที่มีพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน (อุบัติการณ์การพบเชื้อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์) (Sundqvist, 1994)



รูปที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้โดยนักวิจัย ในตัวอย่างจากคลองรากฟันที่มีการตายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียจากคลองรากฟันที่มีพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน

แบคทีเรีย	**อุบัติการณ์ (%)**
Fusobacterium nucleatum	48
Streptococcus species	40
Bacteroides species	35
Prevotella intermedia	34
Peptostreptococcus micros	34
Eubacterium alactolyticum	34
Peptostreptococcus anaerobius	31
Lactobacillus species	32
Eubacterium lentum	31
Fusobacterium species	29

แบคทีเรีย	อุบัติการณ์ (%)
Campylobacter species	25
Peptostreptococcus species	15
Actinomyces species	15
Eubacterium timidum	11
Capnocytophaga ochracea	11
Eubacterium brachy	9
Selenomonas sputigena	9
Vilonella parvula	9
Porphyromonas endodontalis	9
Prevotella buccae	9
Prevotella oralis	8
Proprionibacterium propionicum	8
Prevotella denticola	6
Prevotella loescheii	6
Eubacterium nodatum	6

(ดัดแปลงจาก Sundqvist ; 1994)

การศึกษาที่ผ่านมาจำนวนมาก พบว่ามากกว่า 90% ของเชื้อแบคทีเรียที่พบในคลองรากฟันที่มีการตายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน เป็นเชื้อที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Baumgartner และ Falkler, 1991 ; Sundqvist, Johansson และ Sjogren, 1989) Sundqvist (1994) รายงานว่าการขาดออกซิเจน และการมีของเหลวในเนื้อเยื่อจะเป็นแหล่งของสารอาหาร ทำให้ประชากรของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อเยื่อในโพรงฟันที่ตายแล้ว เป็นเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนและเป็นเชื้อกรัมลบ

นอกจากนี้ Farber และ Seltzer (1988) แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ในมนุษย์และสัตว์ทดลองนั้นส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ *Prevotella Porphyromonas Peptostreptococcus Streptococcus Enterococcus Campylobacter* และ *Fusobacterium* การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าสัดส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น ในขณะที่สัดส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนลดลง เมื่อเวลาเปลี่ยนไปหลังจากมีการติดเชื้อ และบริเวณคลองรากฟันส่วนปลายจะมีจำนวนของเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบคลองรากฟันส่วนต้น (Fabricius และคณะ, 1982)

สายพันธุ์ Black-pigmented-*Bacteroides*

Black-pigmented-*Bacteroides* เป็นกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียซึ่งปรากฏในการติดเชื้อที่มีหนอง มีต้นกำเนิดจากในช่องปาก การศึกษาของ Van Winkelhoff, Carlee และ Graaff (1985) รายงานถึงการเกิดฝีโพรงหนองบริเวณปลายรากฟัน มักจะพบเชื้อเหล่านี้ ได้แก่ *P. intermedia* *P. endodontalis* หรือ *P. gingivalis* มีการศึกษาหลายการศึกษาที่ศึกษาเกี่ยวกับความชุกของ *Bacteroides* ดังตารางที่ 2 แสดงถึงความชุกของ Black-pigmented-*Bacteroides*

	จำนวนฟัน	วิธี	% อุบัติการณ์
Pantera, Zambon และ Shih-Levine, 1988	30	Indirect immunofluorescence	49
		Culture technique	20
Sundqvist, Johansson และ Sjogren, 1989	72	Culture technique	30
Jung และคณะ, 2000	38	Molecular technique	42.1
Siqueira และคณะ, 2001	54	Molecular technique	59.3

ตารางที่ 2 แสดงความชุกของ Black-pigmented-*Bacteroides*

สายพันธุ์ *Bacteroides* แบ่งย่อย ๆ ออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ (Haapasalo, 1989)

1. Bile resistant *Bacteroides*
2. Black pigmented *Bacteroides*
3. The bile sensitive, saccharoclastic nonpigmenting *Bacteroides*
4. Bile-sensitive, assacharolytic nonpigmenting *Bacteroides*

Black-pigmented-*Bacteroides* เป็น *Bacteroides* ที่ให้สารสีดำ โดยเป็นเชื้อที่พบตามปกติในช่องปาก และส่วนล่างของทางเดินอาหาร เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อ 10 สายพันธุ์ ปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงจากจีนัส (Genus) *Bacteroides* มาเป็นจีนัส *Porphyromonas assacharolytic* และ *Prevotella saccharolytic*

เชื้อ *P. gingivalis* เป็นเชื้อที่มีผู้สนใจศึกษาเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถแยกได้จากเนื้อเยื่อในที่มีการตาย พบได้ประมาณ 12-40% (Jung และคณะ, 2000 ; Pantera, Zambon และ Shih-Levine, 1988 ; Rocas และคณะ, 2001 ; Siqueira และคณะ, 2001 ; Van Winkelhoff,

Carlee และ Graaff, 1985) Van Winkelhoff, Carlee และ Graaff, (1985) พบว่าฟันที่เกิดการติดเชื้อและมีโพรงหนองบริเวณปลายราก มักประกอบด้วยเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งดังนี้ ได้แก่ *P. intermedia* *P. endodontalis* หรือ *P. gingivalis*

Siqueira และคณะ (2001) ใช้วิธีทดสอบทางโมเลกุลต่อเชื้อ Black-pigmented-*Bacteroides* ในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อ พบว่าสามารถพบสายพันธุ์นี้ได้ 59.3% โดย *P. endodontalis* พบได้ 70 % ของตัวอย่างที่มีหนอง *P. gingivalis* พบได้ 40% และ *P. intermedia* พบได้ 10% นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อ *P. gingivalis* มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับเชื้อ *P. endodontalis* ในฟันที่มีโพรงหนองบริเวณปลายราก Siqueira และคณะ (2001) สรุปว่าความชุกที่สูงของเชื้อ *P. endodontalis* และ *P. gingivalis* มีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรคบริเวณปลายราก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Haapasalo (1989) ซึ่งผลของเขาบ่งชี้ว่าการเสริมกันของเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนหลาย ๆ ชนิด เป็นสาเหตุให้เกิดอาการโดยเชื้อ *P. gingivalis* *P. endodontalis* และ *P. buccae* มีความสัมพันธ์กับอาการอักเสบเฉียบพลันมากกว่า *Bacteroides* สายพันธุ์อื่น ๆ นอกจากนั้นเชื้อ *P. gingivalis* ยังสามารถพบได้ในพยาธิสภาพปลายรากที่มีความเจ็บปวดปานกลาง (Bogenand และ Slots, 1999) และสามารถตรวจพบได้ในการติดเชื้อนอกปลายรากที่มีการสูญเสียของกระดูกเบ้าฟัน และดื้อต่อการรักษา (Sjogren และคณะ, 1990)

ศักยภาพในการทำให้เกิดโรคหรือปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงที่มีความสำคัญของเชื้อชนิดนี้ มีความสัมพันธ์กับการผลิตเอ็นไซม์ไฮโดรไลติกส์ (Hydrolytic enzymes) ได้แก่ คอลาจีเนส (Collagenase) โปรติเอส (Protease) และเอ็นโดทอกซิน (Endotoxin) (Dahlen และ Bergenholtz, 1980 ; Steffen และ Hentges, 1981 ; van Steenbergen และคณะ, 1982) นอกจากนั้นเชื้อชนิดนี้มีความสามารถในการต้านทานต่อการกลืนกินของนิวโทรฟิล (Neutrophil phagocytosis) (Sundqvist และคณะ, 1982) สามารถทำลายอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulins) (Kilian, 1981) และเป็นตัวยับยั้งพลาสมา โปรติเนส (Plasma proteinase inhibitors) (Carlsson และคณะ, 1984 ; Nilsson, Carlsson และ Sundqvist, 1985) ดังนั้นความชุกของเชื้อชนิดนี้ จึงสามารถอธิบายได้ว่าทำไมเชื้อชนิดนี้จึงเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อที่มีหนองบริเวณปลายราก และการเกิดการอักเสบเฉียบพลันดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

โดยส่วนใหญ่แล้วพบว่า การติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันมักจะตอบสนองต่อการรักษาคลองรากฟันตามปกติ เมื่อคลองรากฟันได้รับการขยาย ทำให้ปราศจากเชื้อและอุดอย่างเหมาะสม จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าอัตราการเกิดผลสำเร็จภายหลังการรักษาคลองรากฟันในฟันที่มีอาการอักเสบปลายรากอยู่ที่ประมาณ 80-90% (Bystrom, Haaponen และ Sundqvist, 1987 ; Kerekes และ Tronstad, 1979) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่ามีจำนวนหนึ่งของพยาธิสภาพ

ปลายรากไม่ตอบสนองต่อการรักษาคลองรากฟันตามปกติ ซึ่งยังไม่สามารถทราบว่าการที่ฟันไม่ตอบสนองต่อการรักษา เกิดจากการไม่สามารถเข้าไปทำการกำจัดเชื้อแบคทีเรียบริเวณนอกปลายราก หรือการที่ยังมีเชื้อแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างจากเชื้อปกติที่พบในคลองรากฟัน

ABou-Rass และ Bogen (1998) แสดงตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียจากปลายรากฟัน พบว่า 63.6% เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน และ 36.4% เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน สายพันธุ์ที่พบได้มากที่สุดคือ สายพันธุ์ *Actinomyces* โดยพบได้ 31.8%

สายพันธุ์ *Actinomyces* มักพบในการรักษาคลองรากฟันที่ล้มเหลว รวมถึงการติดเชื้อนอกปลายรากฟัน (Bystrom, Haaponen และ Sundqvist, 1987 ; Figdor และคณะ, 1992 ; Nair และ Schroeder, 1984) โดยสายพันธุ์ที่พบในช่องปากจะรวมถึง *A. israelii* *A. genencseriae* *A. meyeri* *A. naeslundii* *A. viscosus* และ *A. odontolyticus*

สายพันธุ์ *Actinomyces* เป็นเชื้อกรัมบวกรูปแท่ง ไม่เคลื่อนที่ และไม่มีการสร้างสปอร์ ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นเชื้อที่ใช้ออกซิเจน บางชนิดเป็นชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Siqueira และคณะ, 2002) สายพันธุ์นี้จะมีโครงสร้างที่เป็นส่วนยื่นออกมาคล้ายนิ้วมือ สามารถเกาะกับผนังคลองรากฟันหรือเศษเนื้อฟันที่เกิดจากการขยายคลองรากฟัน และถูกดันลงไปที่รูเปิดบริเวณปลายรากฟันระหว่างการรักษารากฟัน นอกจากนั้นยังสามารถม้วนตัวไปกับเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นหรือเซลล์ภูมิต้านทานของร่างกาย และดันลงไปยังบริเวณเนื้อเยื่อปลายรากฟัน (Figdor และคณะ, 1992) นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถหลบหลีกภูมิต้านทานของร่างกาย โดยสร้างกลุ่มของเชื้อที่รวมตัวกันในเซลล์ภูมิต้านทานของร่างกาย ซึ่งจะประกอบไปด้วยแบคทีเรียที่แตกกิ่งก้านเป็นหลายสาขา และม้วนตัวไปกับสารประกอบของเมทริกต์ของโปรตีน โพลีแซคคาไรด์ (Figdor และคณะ, 1992) กลุ่มก้อนของเชื้อชนิดนี้ สามารถอาศัยอย่างสมดุลกับเนื้อเยื่อของร่างกายได้ โดยปราศจากการชักนำให้เกิดการตอบสนองต่อการอักเสบอย่างเฉียบพลัน แต่จะทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง เซลล์ *Actinomyces* จำนวนมากมักจะทำให้การอักเสบยังคงปรากฏอยู่ (Behbehani และ Jordan, 1982) การทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ต่ำของเชื้อชนิดนี้รวมถึงการตอบสนองของร่างกายของโฮสต์เซลล์เพียงเล็กน้อย เป็นเหตุผลที่ทำให้ยังคงมีการอักเสบเรื้อรังที่บริเวณปลายราก พบว่าการติดเชื้อแบคทีเรียบริเวณนอกปลายราก ทำให้เกิดการรวมกันของกลุ่มเชื้อ ซึ่งจะถูกล้อมรอบโดยสารที่อยู่นอกเซลล์ (Extracellular material) (Tronstad, Cervone และ Barnett, 1990) บางครั้งเชื้อแบคทีเรียที่รวมตัวเหล่านี้ มักจะรวมกันเป็นแกรนูล (Granules) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 3-4 มิลลิเมตร แกรนูลนี้มักจะมีสีเหลืองสดใส และเนื่องจากการที่มีลักษณะเช่นนี้ในงานวิจัยที่ผ่านมาจึงเรียกว่าเป็นซัลเฟอร์ แกรนูล (Sulfur granules) (Kapsimalis, Garrington และ Summit, 1968) แกรนูลชนิดนี้ พบได้ 25% ของพยาธิสภาพ

ที่ดื้อต่อการรักษา (Sunde และคณะ, 2002) ในแกรนูลชนิดนี้สามารถพบเชื้อเหล่านี้ได้แก่ *A. israelii* *A.* visc*osus* *A. naeslundii* และ *A. meyeri* นอกจากนั้น Gatti และคณะ (2002) พบเชื้อ *A. viscosus* จำนวนมากในพยาธิสภาพปลายรากฟันที่ไม่มีอาการ ซึ่งบ่งชี้ได้โดยวิธีดีเอ็นเอ-ดีเอ็นเอ ไฮบริไดเซชั่น (DNA-DNA hybridization) เชื้อชนิดนี้ยังสามารถพบได้บริเวณพยาธิสภาพปลายรากโดยพบได้ประมาณ 10-18% ในการติดเชื้อของคลองรากฟันครั้งแรก (Bystrom, Haaponen และ Sundqvist, 1987 ; Gomes, Lilley และ Drucker, 1996 ; Siqueira และคณะ, 2002 ; Sundqvist, 1992) การศึกษาของ Borssen และ Sundqvist (1981) แสดงให้เห็นว่า 25 ชนิดของเชื้อสายพันธุ์นี้ 4 ชนิดเป็น *A. naeslundii* 4 ชนิดเป็น *A. odonlyticus* 6 ชนิดเป็น *A. viscosus* และ 7 สายพันธุ์ ถูกบ่งชี้ว่าเป็นสายพันธุ์ *Actinomyces*

ดังนั้นจากที่กล่าวไว้ข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการเกิดพยาธิสภาพจากเชื้อชนิดนี้เกิดจากความสัมพันธ์ของเชื้อหลายชนิดรวมถึงเชื้อ *A. israelii* *A. viscosus* *A. naeslundii* *A. odonlyticus* และ *A. meyeri*

นอกจากการติดเชื้อสายพันธุ์ *Actinomyces* แล้ว ยังพบว่าพยาธิสภาพบริเวณปลายรากฟันที่ต้านต่อการรักษา สามารถพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ (Sunde และคณะ, 2002) โดยเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อกรัมบวกรูปกลมที่ใช้ออกซิเจนในการเติบโต Dahlen และ Haapasalo (1998) พบว่าเชื้อชนิดนี้มักพบร่วมกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นในการทำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณปลายรากฟัน

Sundqvist (1994) แยกเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ซึ่งพบว่า *Streptococci* เป็นหนึ่งในเชื้อที่พบได้บ่อย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. anginosus* และ *S. mitis* (พบได้ประมาณ 40% ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากคลองรากฟันที่มีพยาธิสภาพปลายรากฟัน) Oguntebi และคณะ (1982) พบว่า *S. mitis* เป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในกระดูกเบ้าฟันที่มีหนอง นอกจากนั้น Iwu และคณะ (1990) สามารถแยกเชื้อ *S. mitis* ในพยาธิสภาพปลายรากที่ดื้อต่อการรักษา และยังคงมีตุ่มหนอง ปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงของเชื้อชนิดนี้ได้แก่ เอ็นไซม์ (Enzymes) ผลิตผลจากเมตาโบลิค (Metabolic product) เปปติโดไกลแคน (Peptidoglycans) และกรดไลโปทิโชอิค (Lipoteichoic acid) โดยเปปติโดไกลแคนสามารถกระตุ้นคอมพลีเมนต์ (Complement) และเม็ดเลือดขาว ชนิด บี (B-lymphocyte) ส่วนกรดไลโปทิโชอิคทำให้เกิดการละลายของกระดูก (Farber และ Seltzer, 1988 ; Seltzer และ Farber, 1994)

เชื้อแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีความสำคัญต่อการรักษาคลองรากฟันได้แก่ *Enterococcus faecalis* เป็นเชื้อกรัมบวกรูปกลม ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต เชื้อชนิดนี้มีผู้วิจัยทำการศึกษามาก สามารถพบได้ประมาณ 11.5% ของคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อครั้งแรก และเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยประมาณ 1 ใน 3 ของคลองรากฟันที่ทำการรักษาไปแล้ว และเกิด

ความล้มเหลว(Sundqvist และคณะ, 1998) Farbricius และคณะ (1982) พบว่าเชื้อนี้มีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อยาที่ใส่ในคลองรากฟัน สามารถดำรงชีวิตในคลองรากฟันที่ทำการรักษาไปแล้วเป็นเชื้อเดี่ยว ๆ โดยไม่ต้องพึ่งพาอาศัยเชื้อชนิดอื่น ๆ นอกจากนั้นเชื้อสามารถมีความทนทานในสภาพที่ขาดอาหาร หรือในคลองรากฟันที่ทำการขยายจนสะอาดแล้ว การศึกษาหลายการศึกษา พบว่าเชื้อชนิดนี้มีความต้านทานต่อความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Bystrom, Claesson และ Sundqvist, 1985 ; Haapasalo และ Orstavik, 1987 ; Safavi, Spangberg และ Langeland,1990) โดยปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงของเชื้อชนิดนี้มีหลายประการ ได้แก่การที่เชื้อชนิดนี้สามารถยึดเกาะกับเซลล์โฮสต์ หรือเปลี่ยนแปลงการตอบสนอง ของโฮสต์ สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้หลายชนิด โดยโปรตีนเหล่านี้มีความสำคัญต่อการปรับตัวในสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ เช่น ความเป็นด่างที่สูงของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือน้ำยาล้างคลองรากฟัน (Hartke และคณะ, 1998 ; อ้างถึงใน Evans และคณะ, 2002)

Bystrom และ Sundqvist (1981) ศึกษาประสิทธิภาพของการขยายคลองรากฟัน โดยไม่มีการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟัน หรือใส่ยาในคลองรากฟัน พบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 10^4-10^6 เซลล์ ในตอนเริ่มต้น แต่หลังจากการทำการขยายคลองรากฟันแล้วเชื้อแบคทีเรียลดจำนวนลงเหลือ 10^2-10^3 เซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Sjogren และคณะ (1991) พบว่าหลังจากทำการขยายคลองรากฟันโดยไม่ใส่ยาในคลองรากฟันจะมีเชื้อแบคทีเรียเหลืออยู่ประมาณ 10^2 เซลล์ หรือน้อยกว่า นอกจากนั้น Siqueira และคณะ (2002) รายงานว่าหลังจากขยายคลองรากฟันโดยไม่ใส่ยาในคลองรากฟันจะมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียลดลง 60.3-78.4% ดังนั้นการใส่ยาในคลองรากฟันระหว่างการรักษาจึงมีความจำเป็นในการลด หรือกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่ เพื่อให้เกิดการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อปลายรากฟัน (Bystrom และ Sundqvist, 1985)

ปัจจุบันยาที่ใส่ในคลองรากฟันมีหลายชนิด ซึ่งพบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่นิยมใส่ในคลองรากฟันที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง (Bystrom ; Claesson และ Sundqvist, 1985 ; Heithersay, 1975 ; Safavi และคณะ, 1985) สามารถกำจัดเชื้อในคลองรากฟันที่ยังหลงเหลืออยู่จากการขยายคลองรากฟัน แม้ว่ากลไกในการออกฤทธิ์ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะยังไม่เป็นที่เข้าใจดีนัก แต่ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียถูกพิจารณาว่ามีความเกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยไฮดรอกซิลอิออนทำให้เกิดความเป็นด่างประมาณ 12.5 ซึ่งเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถดำรงชีวิตได้ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่างระดับนี้ (Heithersay , 1975)

ไฮดรอกซิลอิออนเป็นอิออนที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ซึ่งสามารถมีปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลหลายชนิด (Freeman และ Crpao, 1982 ; อ้างถึงใน Siqueira และ Lopes, 1999) ซึ่งกลไกในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียได้แก่ การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ การทำให้โปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Protein denaturation) สามารถทำลายดีเอ็นเอ และนอกจากนั้น

ยังสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวของไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide ; LPS) ของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยพบว่าไลโปโพลีแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียกรัมลบ มีบทบาทสำคัญในขบวนการทำให้เกิดการละลายของกระดูกบริเวณปลายรากฟัน ไลโปโพลีแซคคาไรด์สามารถกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของเมดิเอเตอร์ที่ทำให้เกิดการละลายของกระดูก เช่น พรอสตาแกลนดิน E_2 (Prostaglandin E_2 ; PGE_2) จากเซลล์ของโฮสต์ (Stashenko และ Teles, 1998) การศึกษาของ Safavi และ Nichols (1994) พบว่าคุณสมบัติทางชีวของไลโปโพลีแซคคาไรด์ ต้องมีกรดไขมันที่เชื่อมโยงกับเอสเตอร์ (ester-linked hydroxy fatty acid) และการเชื่อมโยงของพันธะชนิดนี้ถูกทำลายโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ดังนั้นการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาใส่ระหว่างการนัดแต่ละครั้งจะช่วยในการกำจัดพิษส่วนที่เหลืออยู่ของไลโปโพลีแซคคาไรค์ในคลองรากฟัน (Silva และคณะ, 2002)

อย่างไรก็ตามพบว่าการศึกษาหลายการศึกษายังคงเน้นย้ำถึงประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ลดลง (Cohen และ Lasfargues, 1988 ; Siqueira และ Uzeda, 1996 ; Sjogren และคณะ, 1991 ; Wang และ Hume, 1988) โดยเชื้อแบคทีเรียอาจดำรงชีวิตอยู่หลังจากใส่ยาในคลองรากฟันเนื่องจากเหตุผลหลายประการ

ประการแรก การสูญเสียคุณสมบัติของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ อาจเกิดจากนิเวศวิทยาของคลองรากฟัน และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของการใส่ยา ซึ่งอาจเป็นของเหลวจากเนื้อเยื่อ เลือด และเอกซูเดทที่เกิดจากปฏิกิริยาการอักเสบ (Cohen และ Lasfargues, 1988) ในสิ่งมีชีวิตจะมีการแลกเปลี่ยนของเหลวจากเนื้อเยื่อที่ผิวหน้าของยา ทำให้เกิดการเจือจางผลของความเป็นด่างอย่างรวดเร็ว (Hank, Bergenholtz และ Kim, 1984)

ประการที่สอง แคลเซียมไฮดรอกไซด์อาจทำให้ถูกเป็นกลางโดยส่วนประกอบของเนื้อเยื่อและผลิตผลของแบคทีเรีย เพื่อที่ยาจะมีประสิทธิภาพและต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน ไฮดรอกซิลอิออนจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ควรที่จะแพร่เข้าไปในท่อเนื้อฟันด้วยความเข้มข้นที่เพียงพอ มีรายงานพบว่าเนื้อฟันมีความสามารถในการทำให้ยามีความเป็นกลางเนื่องจากการมีโปรตอน เช่น ไฮโดรเจนฟอสเฟตอิออน ไฮโดรเจนคาร์บอเนต และไฮโดรเจนคาร์บอเนตอิออน ในชั้นของไฮดรอกซิลแอปพาไทท์ ดังนั้นจึงทำให้ความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Wang และ Hume, 1988)

ประการที่สาม เวลาสำหรับการใส่ยาควรจะเพียงพอที่จะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ Sjogren และคณะ (1991) แสดงให้เห็นว่าการใส่ยาในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียหลังจากขยายคลองรากฟันแล้ว ในขณะที่การใส่ยาในคลองรากฟัน 10 นาที ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ

ประการที่สี่ เชื้อแบคทีเรียอาจอยู่ในระบบคลองรากฟันที่ยาไม่สามารถเข้าไปกำจัดเชื้อได้ นอกจากนั้นการจัดเรียงตัวของเซลล์แบคทีเรียก็มีความสำคัญ โดยเซลล์ที่เกาะตามผนังคลองรากฟันสามารถลดประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของยา เนื่องจากเซลล์ที่อยู่ส่วนปลายของกลุ่มเชื้อเหล่านี้สามารถป้องกันเซลล์ที่อยู่ลึกกว่าภายในท่อเนื้อฟัน และเชื้อแบคทีเรียที่จับกลุ่มกับเนื้อเยื่อที่ตายแล้วในส่วนของคลองรากฟันที่มีการแตกกิ่งก้าน หรือส่วนคอด สามารถหลบหลีกจากฤทธิ์ของยาได้ (Siqueira และ Uzeda, 1996)

นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรียในช่องปากและในคลองรากฟันมีความแตกต่างในความทนทานต่อช่วงความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกันไป ส่วนใหญ่แล้วจะเติบโตได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 6-9 (Padan, Zilberstein และ Schuldiner, 1981) สายพันธุ์ *Escherichia coli* *Proteus vulgaris* *Enterobacter aerogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* สามารถดำรงชีวิตในช่วงความเป็น กรด-ด่าง 8-9 เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถแยกจากคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อโดยบังเอิญ โดยมักทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำ (Haapasalo, Ranta และ Ranta, 1983 ; Siren และคณะ, 1997 ; Tronstad, 1992) เชื้อแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Enterococci* สามารถทนทานต่อความเป็นกรด-ด่าง ที่มีค่าสูงในช่วง 9-11 เชื้อราเติบโตได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่กว้างประมาณ 5-9 (Siqueira และ Lopes, 1999) *A. viscosus* เติบโตได้ดีในช่วงความเป็น กรด-ด่าง 6 และ 7 (Takehashi และ Schachlele, 1990) สายพันธุ์ *P. intermedia* *F. nucleatum* และ *P. gingivalis* เติบโตได้คงที่ในช่วงความเป็นด่างประมาณ 8-8.3 (Marsh, Mcnee และ Mcdermid, 1993)

Mcdermid, McKee และ Marsh (1988) ศึกษาความเป็นกรด-ด่าง และเอ็นไซม์ต่อการเจริญเติบโตของ *P. gingivalis* W 50 ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยเติม 0.5 โมล โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodiumhydroxide, NaOH) หรือ 0.5 โมลกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ผลที่ได้พบว่าการเติบโตคงที่ของเชื้อชนิดนี้พบได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 6.7 และ 8.3 และความเป็นด่างมากที่สุดที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้คือ 7 และ 8 นอกจากนั้นยังพบว่า *Bacteroides intermedius* เติบโตได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง ในช่วงแคบ (ประมาณ 6-7.3)

ดังนั้นจากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นและการศึกษาหลายการศึกษาจึงได้รายงานถึงประสิทธิภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ลดลง ตัวอย่างได้แก่เชื้อ *E. faecalis* ซึ่งมีความต้านทานต่อยาที่ใส่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟัน และต้านทานต่อผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Haapasalo และ Orstavik, 1987 ; Orstavik และ Haapasalo, 1990 ; Siqueira และ Uzeda, 1996 ; Safavi, Spangberg และ Langeland, 1990)

มีการศึกษาจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทั้งในสิ่งมีชีวิตและห้องปฏิบัติการ (Bystrom และ Sundqvist, 1985 ; Estrela และคณะ, 2001 ;

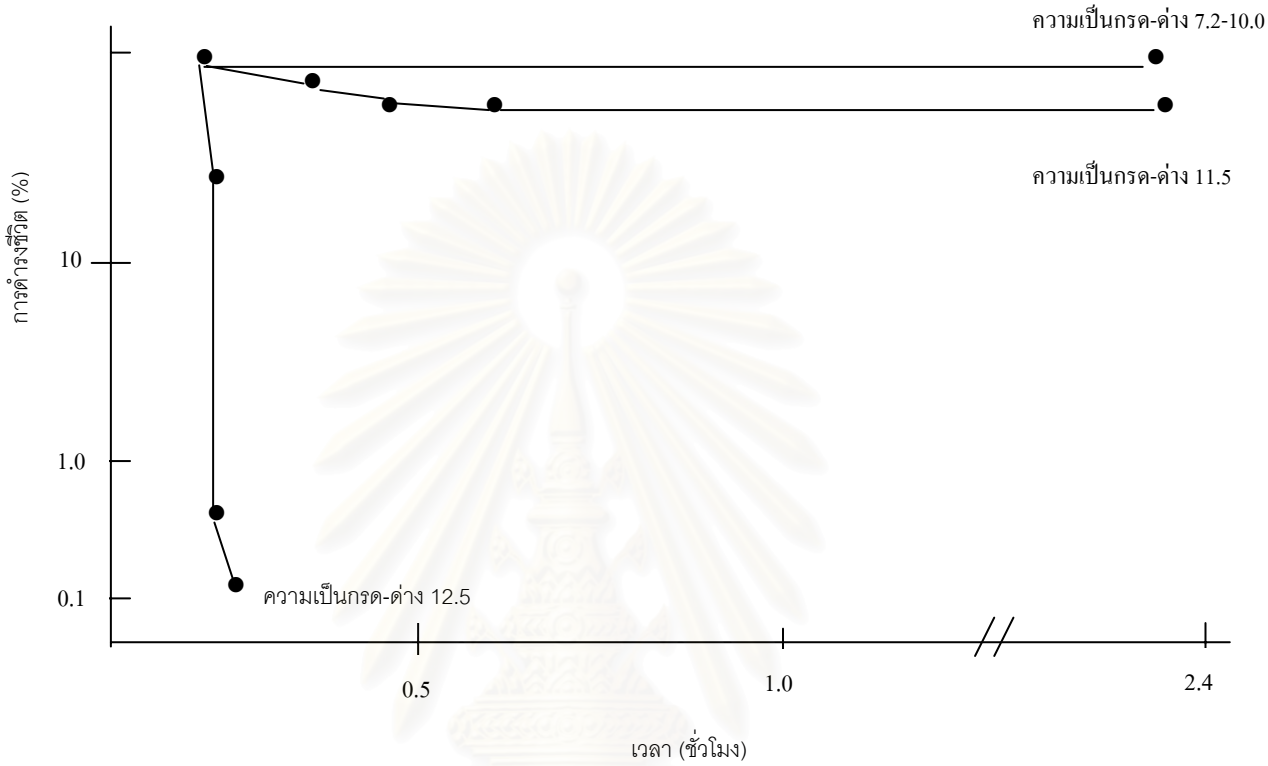
Filho, Leonardo และ Silva, 2002 ; Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou, 1993 ; Orstavik, Kerekes และ Molven, 1991 ; Sjogren และคณะ, 1991 ; Stevens และ Grossman, 1983) ตัวอย่างการศึกษา เช่น Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou (1993) ศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และพาราโมโนคลอโรฟีนอล (Paramonochlorophenol, PMCP) ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนจากคลองรากฟันในห้องปฏิบัติการ โดยแยกเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนจากคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อแยกสายพันธุ์ และใช้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย $3x10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สัมผัสโดยตรงกับ 2% ของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพมากกว่าพาราโมโนคลอโรฟีนนอลในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน

Barbosa และคณะ (1997) ศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คลอเฮกซิดีน (Chlorhexidine) และแคมโฟเรเตตพาราโมโนคลอโรฟีนอล (Comphorated paramonochlorophenol) ที่เป็นยาใส่ในคลองรากทั้งในทางคลินิกและห้องปฏิบัติการ ในทางคลินิกพบว่ายาทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการกำจัดหรือลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน แสดงให้เห็นโดยการมีผลการเพาะเชื้อเป็นลบ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลของยาแต่ละตัว ในห้องปฏิบัติการพบว่าแคมโฟเรเตตพาราโมโนคลอโรฟีนอลมีพื้นที่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียใหญ่ที่สุด

นักวิจัยส่วนใหญ่มักจะเน้นการศึกษาประสิทธิภาพของแคลเซียมไฮดรอกไซด์โดยดูความเป็นด่างที่มากที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่สามารถฆ่าเชื้อได้ และการทดลองในห้องปฏิบัติการมักใช้เชื้อแบคทีเรียจำนวนมาก ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบเพียงการศึกษาของเมตตจิตต์ และอมรรัตน์ (2002) และการศึกษาของ Bystrom และ Sundqvist (1985) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์โดยดูความเป็นด่างที่ต่ำที่สุด โดยการศึกษาของเมตตจิตต์ และอมรรัตน์ ศึกษาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกันในห้องปฏิบัติการต่อเชื้อ *E. faecalis* *A. viscosus* *S. aureus* และ *S. mutans* พบว่าระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลในการฆ่าเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ 12.50

ส่วนการศึกษาของ Bystrom และ Sundqvist (1985) ศึกษาระดับความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ต่ำที่สุด ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* โดยใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มแรก $2.4x10^6$-$1.5x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และทำการปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodiumhydroxide) โดยจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ลดลงน้อยกว่า 0.1% ของเชื้อแบคทีเรียจำนวนเริ่มต้นถือว่ายามีความสามารถ

ในการฆ่าเชื้อ ผลการศึกษาพบว่าอัตราการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* ขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีค่ามากกว่า 11.5 (ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของ *E. faecalis* สายพันธุ์ NCTC 775

ดังนั้นจากการทบทวนวรรณกรรมที่กล่าวมาข้างต้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่าระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีผลอย่างไรต่อการดำรงชีวิตของเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในคลองรากฟันที่มีพยาธิสภาพที่ปลายรากฟัน ถ้าทดสอบกับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่หลังจากการทำการขยายคลองรากฟันแล้ว ผลจากการศึกษานี้จะทำให้ทราบถึงระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลในการฆ่าเชื้อ และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไปในอนาคต

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ออกซิเจน และไม่ใช้ออกซิเจน ในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ เป็นการศึกษาเชิงทดลองซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการทดลองดังนี้

1. การเตรียมแบคทีเรียและการเพาะเลี้ยงเชื้อ
2. การเตรียมปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย
3. การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัว
4. การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50 ถึง 7.00
5. การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* *E. faecalis* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป เพื่อหาระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่จะนำไปใช้ในการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์
6. การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* *E. faecalis* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป และทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ประชากร

ประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเชื้อแบคทีเรียหลาย ๆ ชนิด ที่พบบ่อยในคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อ และมีพยาธิสภาพปลายรากฟัน

ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้ได้แก่

1. *Porphyromonas gingivalis* (เป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ; สายพันธุ์ W 50)
2. *Actinomyces viscosus* (เป็นแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ; แยกและพิสูจน์ชนิดของเชื้อจากช่องปากผู้ป่วย)

3. *Streptococcus mitis* (เป็นแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ; แยกและพิสูจน์ชนิดของเชื้อจากช่องปากผู้ป่วย)
4. *Enterococcus faecalis* (เป็นแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ; แยกและพิสูจน์ชนิดของเชื้อจากช่องปากผู้ป่วย)
5. *Staphylococcus aureus* (เป็นแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ; แยกและพิสูจน์ชนิดของเชื้อจากช่องปากผู้ป่วย)

ตัวแปร

ตัวแปรอิสระ : ระดับความเป็นกรด-ด่าง

ตัวแปรตาม : การเติบโตของแบคทีเรีย

ตัวแปรควบคุม : เวลา

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

1. ชนิดของแบคทีเรีย
   - *Porphyromonas gingivalis*
   - *Actinomyces viscosus*
   - *Enterococcus faecalis*
   - *Staphylococcus aureus*
   - *Streptococcus mitis*
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ
   - Brucella agar (BBL, Becton Dickinson Microbiology System, MD USA, 43 กรัม/ 1 ลิตร ประกอบด้วย Peptic diges of casein 10.0 กรัม Dextrose 1.0 กรัม Peptic digest of animal tissue 10.0 กรัม Yeast extract 2.0 กรัม Sodiumchloride 5.0 กรัม Sodium Bisulfite 0.1 กรัม Agar 15.0 กรัม)
   - Nutrient agar (OXOID, Lab-Lemco, 500 กรัม/ 17.8 ลิตร ประกอบด้วยผง 1.0 กรัม Yeast extract 2.0 กรัม Peptone 5.0 กรัม Sodiumchloride 5.0 กรัม Agar 15.0 กรัม)
   - Tryptic soy broth (OXOID, Lab-lemco, 3.0 กรัม/ 1 ลิตร ประกอบด้วย Pancreatic digestion of casein 17.0 กรัม Peptic digest of soybean meal 3.0 กรัม, Sodiumchloride 45.6 กรัม Di-basic potassiumphosphate 2.5 กรัม, กลูโคส 2.5 กรัม)

- Tryptic soy agar (Mikrobiologi , MERCK 4.8 กรัม /1 ลิตร ประกอบด้วย Peptone of casein 15.0 กรัม Peptone of Soymeal 5.0 กรัม Sodiumchloride 5.0 กรัม Agar 15.0กรัม
- เฮมิน (Hemin) (Hemin chloride sigma) สารละลายเฮมิน เตรียมโดยใช้เฮมิน 50 มิลลิกรัม ผสมกับ 2% Sodiumhydroxide 0.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น 98.5 มิลลิลิตร และนำเข้าเครื่องออโตเคลบ (Autoclave)
- วิตามิน เค (10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ATC ; Atlantic Laboratories, Carp. Ltd, ประเทศไทย)
- เลือด (จากสภากาชาดไทย)

3. สารเคมี
   - แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (วิทยาศรม, ประเทศไทย)
   - สีย้อมเชื้อ
   - ก๊าซแพค (Gaspak Kit, BBL, Becton Dickinson Microbiology Systems, MD USA)
4. เครื่องมือ
   - หลอดเซนติฟิวก์ (Centifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร (Nunc, Inc Naperville, IL USA)
   - ภาชนะบรรจุผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์
   - บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 มิลลิลิตร (Pyrex, Labware, USA)
   - ฟลาสก์ (Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร (Pyrex, Labware, USA)
   - กระดาษกรอง ขนาดรูกรอง 0.2 ไมโครเมตร (Sartorius, Minisart)
   - ดรอปเปอร์
   - หลอดทดลอง
   - ปิเปต
   - จานเลี้ยงเชื้อ (Falcon, USA)
   - ลูบ (Platinum loop) (Delta Lab)
   - สไลด์ย้อมเชื้อ
   - จาร์เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic jar) (Oxoid, England)
5. อุปกรณ์
   - เครื่องออโตเคลบ
   - เครื่องเซนติฟิวก์ (Super T 21 SORVALL)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- พี-เอช มิเตอร์ (pH- meter)
  (รุ่น EA 420A : Advanced Benchtop 25E / pH-meter, ORION)
- เมทเลอร์ (Metter) (Denver Instrument XL-3100, USA)
- เครื่องอินคูเบเตอร์ (Incubator) (Memmert, Germany)
- กล้องจุลทรรศ์ชนิดเฟสคอนทราส (Phase contrast microscopic)
  (Olympus CK 2 Japan)
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
  (UV-1201 V, SHI MADZU, Japan)
- เครื่องทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต
  (Funa, uv. linker, FS, 800, USA)
- เครื่องนับโคโลนี (Colony counter) (Suntex Taiwan)

วิธีทดลอง

การเตรียมแบคทีเรียและการเพาะเลี้ยงเชื้อ

เชื้อที่ใช้ออกซิเจน

นำเชื้อ *Actinomyces viscosus Streptococcus mitis Enterococcus faecalis Staphylococcus aureus* จากตู้เก็บเชื้ออุณหภูมิ -20°C มาทำการเพาะเชื้อใน 5 มิลลิลิตร ของ Tryptic soy broth จากนั้นนำเชื้อไปเพาะที่ตู้อบเชื้ออุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 วัน หลังจากเชื้อขึ้น (สังเกตจากความขุ่นของน้ำเลี้ยงเชื้อ) นำเชื้อที่ได้ไปเพาะอีกครั้งบน Tryptic soy agar ที่เติมเลือด (ใส่เลือด 5%) สำหรับเชื้อ *E. faecalis* และ *S. mitis* และ nutrient agar สำหรับเชื้อ *A. viscosus* และ *S. aureus* เมื่อโคโลนีของเชื้อขึ้น ทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยการย้อมกรัม

เชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน

นำเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* สายพันธุ์ W 50 มาทำการเพาะเชื้อใน Tryptic soy broth ที่เติมสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อ (เติมวิตามิน เค 10 ไมโครลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร และเฮมิน 100 ไมโครลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร) และ Brucella agar ที่เติมเลือดและสารอาหาร (ใช้เลือดมนุษย์ 10%, วิตามิน เค 10 ไมโครลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร และเฮมิน 100 ไมโครลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร) บรอท (Broth) และวุ้นใส่เลือดที่มีเชื้อจะถูกนำไปใส่ในจาร์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่ขาดออกซิเจนโดยใส่ก๊าซสำหรับ

เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน เมื่อโคโลนีของเชื้อขึ้นทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยการย้อมกรัม รูปที่ 3 แสดงจาร์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน และก๊าซแพคสำหรับเลี้ยงเชื้อ

รูปที่ 3 จาร์เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน และก๊าซแพคสำหรับเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมปริมาณของแบคทีเรีย

การทดลองนี้ใช้แบคทีเรียปริมาณ 10^3โคโลนี ดังนั้นแบคทีเรียปริมาณนี้ เตรียมโดยวิธีการดูความขุ่นของเชื้อ (Opacity tube method) และการนับโคโลนีของเชื้อ (Colony counts method)

1) วิธีการดูความขุ่นของเชื้อ

การดูความขุ่นของเชื้อเป็นวิธีที่ใช้วัดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียโดยเปรียบเทียบกับความขุ่นของเชื้อที่แขวนลอย

วิธีการ

แบคทีเรียมาตรฐานความเข้มข้น $3x10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยการเปรียบเทียบแบคทีเรียที่แขวนลอยอยู่ โดยเทียบเท่ากับความขุ่นของสารสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ (ความขุ่นของสารสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เตรียมโดยนำแบเรียม คลอไรด์ 1% 0.1 มิลลิลิตรผสมกับกรดซัลฟูริก 1% 9.9 มิลลิลิตร)

หลังจากได้สารความขุ่นสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ นำสารที่ได้นี้ไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ λ = 550 นาโนเมตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ (Tryptic soy broth) เป็นหลอดเทียบ ได้ค่า optical density (OD) เท่ากับ 0.176 นาโนเมตร

เนื่องจากวิธีการวัดความขุ่นเป็นวิธีที่บอกปริมาณของแบคทีเรียที่ไม่ละเอียด ดังนั้นเพื่อให้ได้จำนวนแบคทีเรียที่แท้จริงจึงใช้วิธีการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย

รูปที่ 4 เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

2) วิธีการนับโคโลนีของแบคทีเรีย

หลอดที่มีเชื้อเทียบเท่ากับความขุ่นของสารสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ ถูกนำมาทำให้เจือจาง 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 และ 1:100,000 เท่า และนำเชื้อแต่ละความเจือจาง 0.1มิลลิลิตร มาทำการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ต่อจากนั้นนำไปอบในตู้อบเชื้อตามเวลาและสภาพที่เหมาะสม (สภาพที่ใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37^{o}C) หลังจากเชื้อขึ้น แต่ละโคโลนีที่ขึ้นจะสมมุติว่าเป็น 1 หน่วยของสิ่งมีชีวิต หลังจากนั้นทำการนับโคโลนีบนเครื่องนับโคโลนี

การวัดความขุ่นของเชื้อและการนับโคโลนีของเชื้อแต่ละชนิดจะทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่ขึ้น และนำไปคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีของเชื้อต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์

จากการคำนวณจำนวนเชื้อต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์พบว่า

เชื้อ *A. viscosus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ จะมีเชื้อปริมาณ 3.27×10^{5} โคโลนี/มิลลิลิตร

เชื้อ *S. mitis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ จะมีเชื้อปริมาณ 5.55×10^{6} โคโลนี/มิลลิลิตร

เชื้อ *E. faecalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ จะมีเชื้อปริมาณ $5.30x10^8$ โคโลนี/มิลลิลิตร

เชื้อ *S. aureus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ จะมีเชื้อปริมาณ $4.20x10^8$ โคโลนี/มิลลิลิตร

เชื้อ *P. gingivalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ จะมีเชื้อปริมาณ $4.55x10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร

เมื่อทราบจำนวนโคโลนีต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ ทำการเตรียมแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ชนิดละ 13 หลอดทดลอง โดยแต่ละหลอดทดลองมีแบคทีเรียปริมาณ 10^3 โคโลนี ต่อ 1 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ (เตรียมแบคทีเรียให้ได้ปริมาณนี้โดยการเจือจางจำนวนของแบคทีเรียต่อ สเกล 1 ของแมคฟาแลนด์

: ตัวอย่าง เช่น ถ้าสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ = $3x10^5$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ดังนั้นแบคทีเรียจำนวน 10^3 โคโลนี เตรียมได้โดยการเจือจางแบคทีเรีย 1:10 เท่า 2 ครั้ง)

การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัว

นำผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ใส่ซองพลาสติก แล้วนำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เตรียมโดยการละลายผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำดี-ไอออนไนซ์ตลอดคืน

รูปที่ 5 เครื่องอัลตราไวโอเลต สำหรับทำแคลเซียมไฮดรอกไซด์ให้ปราศจากเชื้อ

นำสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ได้แบ่งใส่หลอดเซนติฟิวก์ แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องเซนติฟิวก์ (300 รอบต่อ 1 นาที) เป็นเวลา 10 นาที นำน้ำใสที่ได้มากรองโดยใช้

กระดาษกรองซึ่งมีขนาดรูกรอง 0.20 ไมโครเมตร หลังจากนั้นนำสารที่กรองเสร็จแล้วไปวัดระดับความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องพี-เอชมิเตอร์ (ก่อนการใช้เครื่องทำการคาลิเบตเครื่องด้วยสารละลายมาตรฐานความเป็นกรด-ด่าง 7.00 และ 10.01 ได้เป็นสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่อิ่มตัวมีความเป็นด่าง 12.50 ทดสอบความบริสุทธิ์ของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัวโดยการนำสารละลายนี้ไปเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (วุ้นเลี้ยงเชื้อที่เติมเลือด) และนำเข้าตู้อบ 2-3 วัน

รูปที่ 6 พี-เอชมิเตอร์ รุ่น 420A, Advanced Benchtop 25E/pH-meter, ORION

เนื่องจากความเป็นด่างอิ่มตัวของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อาจมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาเปลี่ยนไป ดังนั้นจึงทำการวัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัวด้วยพี-เอช มิเตอร์ เมื่อเวลาเปลี่ยนไปจาก 0.5 ชั่วโมง จนกระทั่ง 14 วัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน (ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ยของระดับความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไปในแต่ละช่วงเวลา)

การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50 ถึง 7.00

ระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการศึกษานี้จะถูกเตรียมเป็น 12 ระดับ ได้แก่ความเป็นกรด-ด่าง 12.50, 12.00, 11.50, 11.00, 10.50, 10.00, 9.50, 9.00, 8.50, 8.00, 7.50, และ 7.00 โดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 12.50 เตรียมโดยเจือจางสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความเป็นกรด-ด่าง 12.50 ด้วยน้ำดี-ไอออนไนซ์เพื่อให้ความเป็นกรด-ด่างค่อย ๆ ลดลงทีละ 0.5 หน่วย ทำการวัดความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไปด้วยเครื่องพี-เอช มิเตอร์ หลังจากนั้นทำการเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์

แต่ละความเป็นกรด-ด่าง อย่างละ 5 หลอด (สำหรับเชื้อ 5 ชนิด) โดยเตรียมเป็นปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร

การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus S. mitis S. aureus E. faecalis* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป เพื่อหาระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่จะนำไปใช้ในการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

แบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด จะถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ประกอบด้วยกลุ่มทดลอง กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ

กลุ่มทดลอง

1. นำแบคทีเรียจำนวน 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมไว้แล้วสำหรับเชื้อแต่ละชนิด (ชนิดละ 12 หลอด) นำแต่ละหลอดเติมลงใน 1 มิลลิลิตร ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความเป็นกรด-ด่าง 12.50, 12.00, 11.50, 11.00, 10.50, 10.00, 9.50, 9.00, 8.50, 8.00, 7.50 และ 7.00 (ความเป็นกรด-ด่าง 12 ค่า) แล้วนำไปเขย่าบนเครื่องวอร์เท็ก

2. นำสารที่ผสมแล้วนี้เข้าตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C (สำหรับเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนต้องอยู่ในจาร์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อ)

3. ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง, 1 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง, 1 วัน, 3 วัน, 7 วัน, และ 14 วัน นำลูบแตะสารละลายในแต่ละหลอด และทำการเพาะเชื้อบนจานเพาะเชื้อ แล้วนำเข้าตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2-3 วัน ขึ้นอยู่กับอัตราการเติบโต

4. เมื่อครบเวลาเพาะเชื้อ วัดผลโดยการตรวจดูว่าในจานเพาะเชื้อมีเชื้อขึ้นหรือไม่ ถ้ามีเชื้อขึ้นให้บันทึกผลเป็น + ถ้าไม่มีเชื้อขึ้นให้บันทึกผลเป็น - และยืนยันผลการทดลองโดยการย้อมกรัมเพื่อดูชนิดของเชื้อ

กลุ่มควบคุมบวก

ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง แต่ใช้แบคทีเรียปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแต่ละชนิด (เชื้อ 5 ชนิด = 5 หลอดทดลอง) เติมลงไปในแต่ละหลอดของน้ำดี-ไอออนไนซ์ 1 มิลลิลิตร (ทั้งหมด 5 หลอด) แทนสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์หลังจากแต่ละช่วงเวลาทำการเพาะเชื้อและวัดผลเหมือนกันกับกลุ่มทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กลุ่มควบคุมลบ

ทำการทดลองกับสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเป็นด่าง 12.50 1 มิลลิลิตร ที่ไม่ได้ผสมกับเชื้อชนิดใด หลังจากแต่ละช่วงเวลาทำการเพาะเชื้อและวัดผลเหมือนกันกับกลุ่มทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อแต่ละชนิดซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* *E. faecalis* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป และทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

การหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

เนื่องจากผลในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์อาจเกิดจากผลของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ยังหลงเหลืออยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่สูงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ (Tryptic soy broth สำหรับ *A. viscosus* *E. faecalis* *S. mitis* *S. aureus* ; Tryptic soy broth เติมเฮมิน และวิตามิน เค สำหรับ *P. gingivalis* ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อนี้มีความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.5-7.0) จนกระทั่งระดับความเป็นด่างที่สูงของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่ำลงจนกระทั่งถึงระดับความเป็นด่างที่ต่ำสุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลในการฆ่าเชื้อที่ได้ทำการหาค่าไว้แล้วในกลุ่มทดลอง (หน้า 25 สำหรับแบคทีเรียแต่ละชนิด) : ตัวอย่างเช่น ถ้าระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลในการฆ่าเชื้อ คือ 11.00 สำหรับเชื้อ *A. viscosus* ดังนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ จนกระทั่งระดับความเป็นด่างที่ 12.50, 12.00 และ 11.50 ลดลงจนเหลือ 11.00 (จากการศึกษานำร่องพบว่าต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.2 มิลลิลิตร จึงจะทำให้ความเป็นด่างลดลง 0.5 หน่วย)

เนื่องจากสภาพความเป็นกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แบคทีเรียแขวนลอยอยู่ (1 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ความเป็นด่าง 12.50 มีความเป็นด่างลดลงเหลือประมาณ 9.32-9.40) ดังนั้นทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วอีกครั้ง โดยใช้แบคทีเรียปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อหลอด แต่แขวนลอยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ลดลงที่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

จากนั้นทำการเตรียมแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ชนิดละ 13 หลอดทดลอง และเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50, 12.00, 11.50, 11.00, 10.50, 10.00, 9.50, 9.00, 8.50, 8.00, 7.50 และ 7.00 ตามวิธีการเตรียมสารละลายดังที่กล่าวไว้แล้วข้างต้น (แต่ละความเป็นกรด-ด่างเตรียมไว้ 5 หลอด สำหรับเชื้อ 5 ชนิด ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร)

แบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด จะถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ประกอบด้วยกลุ่มทดลอง กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ

กลุ่มทดลอง

1. นำแบคทีเรียปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่เตรียมไว้แล้วสำหรับเชื้อแต่ละชนิด (ชนิดละ 12 หลอด) นำแต่ละหลอดเติมลงในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50 ถึง 7.00 (ความเป็นกรด-ด่าง 12 ค่า) และนำไปเขย่าบนเครื่องวอร์เท็ก

2. นำสารละลายที่ได้ ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ตามวิธีที่ได้กล่าวไว้แล้ว)

3. นำสารที่ผสมนี้ไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37°C (สำหรับเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนต้องอยู่ในจาร์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อ)

4. ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง, 1 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง, 1วัน, 3 วัน, 7 วัน และ 14 วัน นำลูบแตะสารละลายในแต่ละหลอด และทำการเพาะเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อแล้วนำเข้าตู้อบเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2-3 วัน ขึ้นอยู่กับอัตราการเติบโต

5. เมื่อครบเวลาเพาะเชื้อวัดผลโดยการตรวจดูว่าในจานเพาะเชื้อมีเชื้อขึ้นหรือไม่ ถ้ามีเชื้อขึ้นให้บันทึกผลเป็น + ถ้าไม่มีเชื้อขึ้นให้บันทึกผลเป็น - และยืนยันผลการทดลองโดยการย้อมกรัมเพื่อดูชนิดของเชื้อ

กลุ่มควบคุมบวก

ทำการทดลองในกลุ่มควบคุมบวกเหมือนกลุ่มทดลอง แต่ใช้แบคทีเรียปริมาณ 10^3 โคโลนี ของเชื้อแต่ละชนิด (เชื้อ 5 ชนิด = 5 หลอดทดลอง) เติมลงไปในแต่ละหลอดของน้ำดี-ไอออนไนซ์ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร (จำนวน 5 หลอด) แทนการใส่สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หลังจากแต่ละช่วงเวลา ทำการเพาะเชื้อ และวัดผลเหมือนกับกลุ่มทดลอง

กลุ่มควบคุมลบ

ทำการทดลองกับสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเป็นด่าง 12.50 1 มิลลิลิตร ที่ไม่ได้ผสมกับเชื้อชนิดใด หลังจากแต่ละช่วงเวลาทำการเพาะเชื้อและวัดผลเหมือนกันกับกลุ่มทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อแต่ละชนิด หลังจากทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

การศึกษาและการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus S. mitis S. aureus E. faecalis* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป เพื่อหาระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุด ที่จะนำไปใช้ในการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป และทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้สถิติเชิงบรรยาย (descriptive statistics) โดยจะใช้ผลที่สอดคล้องกันอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้ง สรุปผลการวิจัยและตอบคำถามการวิจัยต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ต่อเชื้อ *A. viscosus* และผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ตารางที่ 3 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตรที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *A.viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ความสามารถในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. viscosus* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 10.50 โดยใช้เวลา 6 ชั่วโมงในการฆ่าเชื้อ ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างระดับอื่นไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกันกับผลการฆ่าเชื้อหลังหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ดังตารางที่ 3 และ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตอนที่ 2 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S.mitis* และผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ตารางที่ 5 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S.mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S.mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ความสามารถในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. mitis* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 10.50 โดยใช้เวลา 12 ชั่วโมงในการฆ่าเชื้อ ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างระดับอื่นไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกันกับผลการฆ่าเชื้อหลังหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ดังตารางที่ 5 และ 6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตอนที่ 3 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *E. faecalis* และผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ตารางที่ 7 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ต่อมิลลิลิตร

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	--+	--+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ความสามารถในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *E. faecalis* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 โดยใช้เวลา 12 ชั่วโมงในการฆ่าเชื้อ แต่หลังจากทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วพบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่มีผลในการฆ่าเชื้อ คือสูงกว่า 11.50 เช่นเดิม แต่ต้องใช้เวลาสูงถึง 24 ชั่วโมงในการฆ่าเชื้อ ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างระดับอื่นไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ดังตารางที่ 7 และ 8

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตอนที่ 4 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. aureus* และผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ตารางที่ 9 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ต่อมิลลิลิตร

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	++ -	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	+ - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ความสามารถในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. aureus* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 โดยจะใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 12 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.00 ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 6 ชั่วโมง ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างระดับอื่นไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกันกับผลการฆ่าเชื้อหลังหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ดังตารางที่ 9 และ 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตอนที่ 5 แสดงผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *P. gingivalis* และผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

ตารางที่ 11 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ต่อมิลลิลิตร

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	-++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง ถึง 14 วัน ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 ชม.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
6 ชม.	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
12 ชม.	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
1 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
3 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
7 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
14 วัน	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ความสามารถในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *P. gingivalis* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 โดยจะใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 12 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.00 ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 6 ชั่วโมง ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างระดับอื่นไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกันกับผลการฆ่าเชื้อหลังหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ดังตารางที่ 11 และ 12

เมื่อทำการย้อมกรัม เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อ พบว่า เชื้อ *A. viscosus* ย้อมติดสีม่วง มีรูปร่างหลายแบบ ทั้งแบบแท่ง และทรงรี ๆ ปนกัน บางเซลล์แยกอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ แต่ส่วนใหญ่อยู่เป็นเซลล์ที่มีการแตกกิ่งก้านสาขา เชื้อ *S. mitis* ย้อมติดสีม่วง มีรูปร่างเป็นทรงกลม มักอยู่รวมกันเป็นกระจุก มีส่วนน้อยที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เชื้อ *E. faecalis* ย้อมติดสีม่วง มีรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่กันเป็นสายสั้น ๆ หรืออาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เชื้อ *S. aureus* ย้อมติดสีม่วง มีรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ส่วนเชื้อ *P. gingivalis* ย้อมติดสีชมพู มีรูปร่างเป็นแท่ง มีทั้งเป็นเซลล์ที่อยู่เดี่ยว ๆ และรวมกันเป็นสายสั้น ๆ โดยพบว่าเชื้อที่นำมาทำการย้อมกรัมจะเป็นเชื้อชนิดเดียวกับเชื้อเริ่มต้น

บทที่ 5
การวิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

การอักเสบของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นวัตถุประสงค์สำคัญของการรักษารากฟันคือกำจัดการติดเชื้อและป้องกันการติดเชื้อซ้ำ ซึ่งการรักษาคลองรากฟันประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ หลายขั้นตอนได้แก่ ขั้นตอนการกำจัดเนื้อเยื่อในโพรงฟันที่ติดเชื้อ การขยายคลองรากฟันร่วมกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟัน อย่างไรก็ตามพบว่าขั้นตอนดังกล่าวไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด เนื่องจากการติดเชื้อในคลองรากฟันเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตในระบบคลองรากฟันที่สลับซับซ้อน ไม่ว่าจะเป็นส่วนคลองรากฟันที่แตกแขนง ส่วนคอด หรือในท่อเนื้อฟัน ซึ่งบริเวณเหล่านี้การขยายคลองรากฟันร่วมกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันไม่เพียงพอที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้หมด ดังนั้นฟันที่มีการอักเสบและติดเชื้อที่เนื้อเยื่อในโพรงฟันมีความจำเป็นต้องใส่ยาในคลองรากฟันระหว่างการนัด เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในคลองรากฟัน

ปัจจุบันยาที่ใส่ในคลองรากฟันมีหลายชนิด พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่ทันตแพทย์นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดี ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจะสัมพันธ์กับความเป็นด่างที่สูงของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับประสิทธิภาพของยาหลายประการ ได้แก่ เวลาที่ใช้ในการใส่ยา ของเหลวจากเนื้อเยื่อหรือเอกซูเดทที่เกิดจากปฏิกิริยาการอักเสบ ความสามารถในการบัฟเฟอร์ของเนื้อฟัน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้ความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สูงเพียงพอที่จะฆ่าเชื้อได้ นอกจากนั้นความทนทานของความเป็นกรด-ด่างของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดยังมีค่าแตกต่างกันไป

มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่การศึกษาส่วนใหญ่มักจะศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ระดับความเป็นด่างที่สูงที่สุด ระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลในการฆ่าเชื้อยังไม่มีนักวิจัยเคยทำการศึกษา และการวิจัยส่วนใหญ่มักใช้เชื้อแบคทีเรียปริมาณมากซึ่งไม่สามารถจำลองสถานการณ์จริงในคลินิกได้

การวิจัยนี้เป็นการทดลองที่ทำในห้องปฏิบัติการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อ *P. gingivalis* *A. viscosus* *S. mitis* *E. faecalis* และ *S. aureus* โดยทดสอบกับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่จากการขยายคลองรากฟัน

ตอนที่ 1 อภิปรายระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการวิจัยนี้เป็นเชื้อแบคทีเรียหลาย ๆ ชนิด ที่มักพบในคลองรากฟันที่ติดเชื้อและมีพยาธิสภาพปลายราก เนื่องจากพบว่าการติดเชื้อในคลองรากฟันมักจะประกอบด้วยเชื้อหลาย ๆ ชนิด ซึ่งเป็นกลุ่มของเชื้อที่มีความจำเพาะในคลองรากฟัน (Sundqvist, 1994) เชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันมีความสัมพันธ์กันในแง่การเกื้อกูลสารอาหารซึ่งกันและกัน ซึ่งอาจเกื้อกูลให้แบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นและมีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคมากขึ้น

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันมักจะเป็นเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต โดยพบเป็นเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนได้มากกว่า 90% ของเชื้อที่พบในคลองรากฟันที่มีการตายของเนื้อเยื่อใน ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนมาทำการวิจัยซึ่งได้แก่ *P. gingivalis* การใช้เชื้อชนิดนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou (1993) ซึ่งศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต โดยการศึกษานี้มีการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนหลายชนิด ยกตัวอย่างได้แก่ *P. gingivalis F. nucleatum P. micros P. anaerobius* และ *A. israelli* นอกจากนั้นยังมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Stuart และคณะ (1991) ที่ศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ในห้องปฏิบัติการ

อย่างไรก็ตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการวิจัยนี้มีความไม่สอดคล้องกับการศึกษาอื่นอีกหลายการศึกษา เช่นการศึกษาของ Siqueira และ Uzeda (1996) ศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. israelli* และ *F. nucleatum* ส่วนการศึกษาของ Barnard, Davies และ Figdor (1996) ศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *A. israelli* หรือการศึกษาของ Bystrom, Claesson และ Sundqvist (1985) ศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *F. nucleatum P. anaerobius* และ *A. israelli* ซึ่งจากการศึกษาที่กล่าวมา ชนิดของเชื้อที่นำมาทดสอบสามารถแยกได้จากคลองรากฟันของผู้ป่วย

การศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อ *P. gingivalis* มาทำการทดสอบเพียงชนิดเดียวโดยเป็นเชื้อที่ได้มาจากเชื้ออ้างอิงสายพันธุ์ W50 โดยไม่ได้ทำการเพาะแยกออกมาจากคลองรากฟัน การเลี้ยงเชื้อต้องใช้งบประมาณค่อนข้างมาก นอกจากนั้นเครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะแยกเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนยังมีไม่เพียงพอ จึงเป็นข้อจำกัดของการวิจัยที่ไม่สามารถนำเชื้อชนิดอื่นมาทำการทดลองได้ อย่างไรก็ตามในอนาคตถ้ามีเครื่องมือและอุปกรณ์ในการเพาะแยกเชื้อที่

เพียงพออาจมีการทำการทดสอบกับเชื้ออีกหลาย ๆ ชนิด ได้แก่ *F. nucleatum* *P. endodontalis* *P. intermedia* หรือ *A. israelli* เนื่องจาก Sundqvist (1994) พบว่าสามารถพบเชื้อเหล่านี้ในคลองรากฟันที่ติดเชื้อได้มากเช่นกัน

ส่วนชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการวิจัยครั้งนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Estrela และคณะ (2001) โดยการศึกษาของเขาศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. faecalis* นอกจากนั้นยังมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Bystrom, Claesson และ Sundqvist (1985) ซึ่งใช้เชื้อ *E. faecalis* *S. mitis* และ *A. viscosus* มาทำการทดสอบ ส่วนการศึกษาของ Steven และ Grossman (1983) และ Haapsalo และ Orstavik (1987) ก็ศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *E. faecalis* เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามชนิดของเชื้อที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตในแต่ละการทดลองมักใช้เชื้อที่มีความหลากหลาย โดยเชื้อที่นำมาใช้ส่วนใหญ่มักเป็นเชื้อที่เพาะแยกได้จากคลองรากฟันของผู้ป่วยซึ่งอาจจะมีความแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละคน

ดังนั้นจากที่กล่าวมาทั้งหมดจึงสรุปได้ว่า ประชากรและตัวอย่างที่นำมาศึกษามีความเหมาะสมในระดับหนึ่ง ในแง่ของการใช้เชื้อที่ครอบคลุมของทั้งชนิดของเชื้อที่ใช้ออกซิเจนและชนิดของเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งมีประโยชน์ในแง่ที่สามารถนำผลการทดสอบมาเปรียบเทียบกันได้ นอกจากนั้นตัวอย่างของเชื้อที่นำมาใช้เหล่านี้เป็นเชื้อที่สามารถพบในคลองรากฟันได้มากเช่นกัน

การเตรียมเชื้อและสภาวะการเพาะเชื้อ

เชื้อที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Facultative anaerobe)

เชื้อที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเชื้อที่เพาะแยกได้จากช่องปากของผู้ป่วย โดยนำมาจากตู้เก็บเชื้ออุณหภูมิ -20°C เชื้อที่นำมาใช้อยู่ในรูปโคโลนี หลังจากนำมาเพาะเชื้อในน้ำเลี้ยงเชื้อ และนำเชื้อจากน้ำเลี้ยงเชื้อมาทำการเพาะอีกครั้งบนวุ้นเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีความบริสุทธิ์ โดยพบว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ และขั้นตอนสุดท้ายคือการย้อมกรัมของเชื้อเพื่อดูลักษณะรูปร่าง การย้อมติดสี เมื่อผ่านขั้นตอนดังกล่าวจึงมั่นใจได้ว่าเชื้อมีความบริสุทธิ์ และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแน่นอน นอกจากนั้นเชื้อทั้ง 4 ชนิด ที่นำมาใช้สามารถเพาะเลี้ยงและเจริญเติบโตได้ง่าย โดยใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 2-3 วัน นอกจากนั้นการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อก็สามารถเตรียมได้ง่าย ไม่ต้องมีการเติมอาหารพิเศษ ดังนั้นสรุปได้ว่าสภาวะการเพาะเชื้อและวิธีการเลี้ยงเชื้อมีความเหมาะสม

เชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Strictly obligate anaerobe)

เชื้อ *P. gingivalis* ที่นำมาใช้ในการวิจัยนี้เป็นเชื้ออ้างอิงสายพันธุ์ W 50 การเพาะเลี้ยงมีความยุ่งยากและสลับซับซ้อนกว่าเชื้อที่ใช้ออกซิเจนมาก เนื่องจากต้องเติมอาหารพิเศษที่มีความจำเป็นในการเจริญเติบโตของเชื้อ (เฮมิน และวิตามินเค) การเลี้ยงเชื้อต้องทำในจาร์เลี้ยงเชื้อ ซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่ขาดออกซิเจนโดยใช้ก๊าซแพค โดยก๊าซแพคที่ใช้ทำให้เกิดสภาวะที่ขาดออกซิเจน โดยปล่อยก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ในขณะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) หลังจากนั้นออกซิเจนจะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำดังสมการ (Elmer และคณะ, 1994)

$$2H_2 + O_2 \xrightarrow{\text{catalyst}} 2H_2O$$

ก๊าซชนิดนี้สามารถทำให้เกิดสภาวะที่ขาดออกซิเจนประมาณ 3-5 วัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการเปลี่ยนก๊าซ พร้อม ๆ กับการทำการเพาะเชื้อใหม่ทุก ๆ 3-5 วัน เชื้อนี้มีความไวต่อออกซิเจนมาก โดยเชื้อจะตายได้ถ้าเชื้อสัมผัสกับออกซิเจนประมาณ 15 นาที ดังนั้นการทำงานจึงต้องใช้ความรวดเร็ว นอกจากนั้นเชื้อชนิดนี้มีกลิ่นเหม็นรุนแรง จากการที่เชื้อสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ ดังนั้นการวิจัยที่ผ่านมาจึงพบเชื้อชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับคลองรากฟันที่ติดเชื้อ ที่มีอาการปวด มีหนอง และมีกลิ่น (Hashioka และคณะ, 1992)

จากการเพาะเชื้อในน้ำเลี้ยงเชื้อและวุ้นเลี้ยงเชื้อ พบว่าโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่น และเมื่อทำการย้อมกรัม พบว่าเชื้อที่ย้อมมีความบริสุทธิ์ โดยสังเกตจากการย้อมติดสี และรูปร่างของโคโลนี

ดังนั้นสรุปได้ว่าการเลี้ยงเชื้อในจาร์เลี้ยงเชื้อมีความเหมาะสมในระดับหนึ่งในแง่ที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ นอกจากนั้นยังไม่เสียค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงเชื้อมากเกินไป เมื่อเทียบกับการเลี้ยงเชื้อในตู้สำหรับเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน แต่ต้องใช้ช่วงเวลาในการทำงานค่อนข้างเร็ว เพราะมีบางขั้นตอนต้องนำมาทำนอกจาร์เลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามในอนาคตถ้ามีการพัฒนาและปรับปรุงตู้เลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนได้ อาจสามารถตัดปัญหาในด้านที่เชื้อต้องสัมผัสกับออกซิเจนนอกจาร์เป็นเวลานานเกินไป ซึ่งเป็นผลทำให้เชื้อตายได้

การเตรียมปริมาณของแบคทีเรีย

ปริมาณแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัยนี้คือ 10^3 โคโลนี ต่อการทดสอบระดับความเป็นกรด-ด่าง 1 ค่า การใช้แบคทีเรียปริมาณนี้เนื่องจากเป็นปริมาณของเชื้อที่หลงเหลืออยู่จากการขยายคลองรากฟัน การศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของยาที่ใส่ในคลองรากฟันมักใช้เชื้อปริมาณมาก เช่น การศึกษาของ Georgopoulou, Kontakiotis และ Nakou, (1993) และการศึกษาของ Bystrom, Claesson และ Sundqvist (1985) ศึกษา

ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้ปริมาณของแบคทีเรียเริ่มต้นถึง $3x10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Bystrom และ Sundqvist (1981) ศึกษาประสิทธิภาพในการขยายคลองรากฟันโดยไม่ใช้น้ำยาล้างคลองรากฟัน หรือใส่ยาในคลองรากฟัน พบว่าในตอนเริ่มต้นขณะยังไม่ทำการขยายคลองรากฟันมีเชื้อปริมาณ 10^4-10^6 เซลล์ แต่หลังจากขยายคลองรากฟันแล้วเชื้อมีจำนวนลดลงเหลือ 10^2-10^3 เซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sjojren และคณะ (1991) พบว่าหลังจากทำการขยายคลองรากฟันโดยไม่ใส่ยาในคลองรากฟันจะมีแบคทีเรีย หลงเหลืออยู่ประมาณ 10^2 เซลล์หรือต่ำกว่า

จากการศึกษาดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อที่หลงเหลืออยู่หลังจากขยายคลองรากฟันคือประมาณ 10^3 โคโลนี นั่นจึงเป็นที่มาของการใช้แบคทีเรียจำนวน 10^3 โคโลนี ซึ่งการติดเชื้อในแต่ละคลองรากฟันในผู้ป่วยแต่ละคนอาจมีความแตกต่างกันไป แต่หลังจากขยายคลองรากฟันแล้วเชื้อน่าจะมีปริมาณลดลงดังที่กล่าวไว้แล้ว แต่อย่างไรก็ตามเชื้อปริมาณนี้เป็นปริมาณที่อ้างอิงจากการศึกษาของผู้อื่น ดังนั้นควรมีการทดสอบหาปริมาณเชื้อที่ได้หลังจากการขยายคลองรากฟันที่แท้จริงต่อไป

วิธีการเตรียมปริมาณของแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อให้ได้ปริมาณ 10^3 โคโลนี ในการวิจัยครั้งนี้จะใช้วิธี 2 วิธีคือ

1. การวัดความขุ่นของเชื้อ
2. การนับโคโลนีของเชื้อ

การวัดความขุ่นของเชื้อเป็นการเตรียมปริมาณของแบคทีเรียคร่าว ๆ โดยการวัดความขุ่นของเชื้อ ซึ่งความขุ่นของเชื้อ 1 แมคฟาแลนด์ จะเทียบเท่ากับการมีเชื้อ 10^8 โคโลนี การวัดวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้ เนื่องจากสามารถทำได้ง่ายแต่มักใช้ร่วมกับการนับโคโลนีเพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อที่แท้จริง เนื่องจากเชื้อแต่ละชนิดมีขนาดเล็ก ใหญ่แตกต่างกันไป (Collins, Lyne และ Grange, 1995)

ความขุ่นของเชื้อจะวัดโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีความละเอียดสามารถวัดได้เป็นทศนิยม 3 ตำแหน่ง และเมื่อนำสารความขุ่นเดิมไปทำการวัดซ้ำพบว่ายังคงได้ค่าความขุ่นเท่าเดิม ดังนั้นจึงพิสูจน์ได้ว่าเครื่องมือมีความเที่ยงตรงในการวัด ส่วนการนับโคโลนีของเชื้อต้องนำเชื้อที่หาได้ความขุ่นมาตรฐานจากวิธีการวัดความขุ่นมาทำการเจือจางด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งวิธีการนับโคโลนีของเชื้อเป็นวิธีที่มีความละเอียดและสามารถตรวจสอบความผิดพลาดได้ ตัวอย่างเช่น โคโลนีของเชื้อที่ความเข้มข้น 1:100 เมื่อทำการนับและคำนวณจำนวนแล้วควรมีค่าใกล้เคียงกับจำนวนโคโลนีที่ความเข้มข้น 1:1,000

อย่างไรก็ตามการวัดความขุ่นและการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนสามารถทำได้ง่าย ไม่มีปัญหาในการสัมผัสกับอากาศที่มีออกซิเจนในขณะทำการทดลองต่างกับเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนต้องมีความไวหรือควรใช้เวลาน้อยมากที่สัมผัสกับออกซิเจนหรืออากาศ ซึ่งในการทดลองปรากฏว่า 1 ครั้งที่ทำการทดลอง เชื้อตายและไม่สามารถเจริญเติบโต ความผิดพลาดนี้อาจเกิดเนื่องจากเชื้อถูกออกซิเจนในอากาศเป็นเวลานานไป ทำให้เชื้อไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

การวิจัยครั้งนี้เมื่อทำการวัดความขุ่นและทำการนับจำนวนโคลโลนีของเชื้อ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย พบว่าได้ปริมาณของเชื้อที่ถูกต้องต่อความขุ่นสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ดังนี้

เชื้อ *P. gingivalis* ได้ปริมาณของเชื้อต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เท่ากับ $4.55x10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร เชื้อ *A. viscosus* ได้ $3.27x10^5$ โคโลนี/มิลลิลิตร เชื้อ *E. faecalis* ได้ $5.30x10^8$ โคโลนี/มิลลิลิตร เชื้อ *S.mitis* ได้ $5.55x10^2$ โคโลนี/มิลลิลิตร และเชื้อ *S. aureus* ได้ $4.20x10^8$ โคโลนี/มิลลิลิตร

ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า วิธีการนับจำนวนโคโลนีแต่ละครั้ง และแต่ละความเข้มข้น เมื่อคำนวณออกมาแล้วมีค่าใกล้เคียงกันในเชื้อแต่ละชนิด โดยในแต่ละความเจือจางเมื่อคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีแล้วมีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อนำมาเปรียบเทียบแต่ละครั้งที่ทำการทดลองซ้ำ ก็พบว่าจำนวนโคโลนีที่นับได้ก็ยังคงมีค่าใกล้เคียงกัน นั่นแสดงว่าผลการทดลองสามารถยืนยันความเที่ยงตรงของการวัดหรือการหาจำนวนโคโลนีด้วยวิธีนี้ นอกจากนั้นผลการทดลองยังพบว่าปริมาณเชื้อต่อ 1 สเกลของแมคฟาแลนด์ของเชื้อแต่ละชนิดมีค่าไม่เท่ากันและไม่เท่ากับ $3x10^8$ โคโลนี ซึ่งเป็นไปตามเหตุผลดังที่กล่าวไว้ข้างต้น นั่นคือเชื้อแต่ละชนิดมีขนาดแตกต่างกันไป

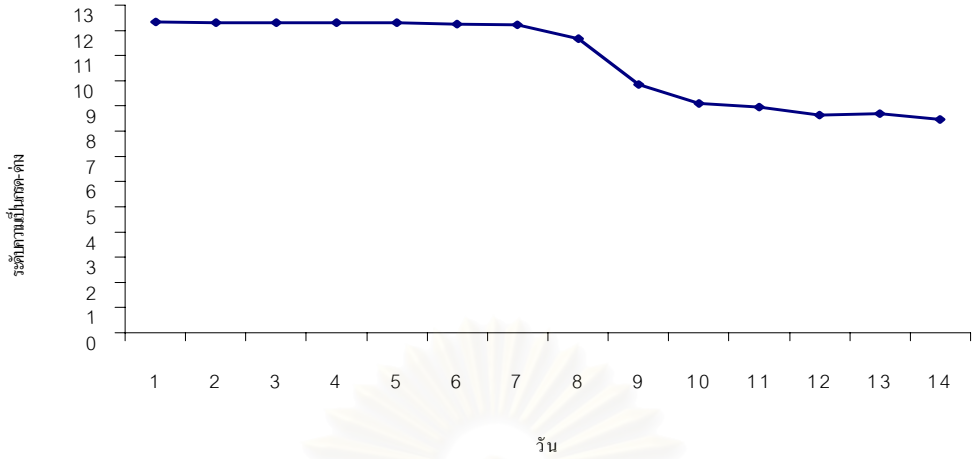
การเตรียมสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ปัจจุบันทันตแพทย์นิยมใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาใส่ในคลองรากฟันระหว่างการนัด (Bystrom, Claesson และ Sundqvist, 1985 ; Safavi และคณะ, 1985) เนื่องจากคุณสมบัติที่ดีหลายประการ ได้แก่ กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อฟัน (Tagger และ Tagger, 1985) กระตุ้นให้มีการปิดของปลายรากฟัน (Kerekes, Heide และ Jacobsen, 1980) รักษารอยทะลุหรือการละลายของคลองรากฟันภายใน (Frank, 1974 ; Frank และ Weine, 1973) รวมทั้งการใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันระหว่างการรักษาคลองรากฟัน (Gencoglu และ Kulekci, 1992 ; Safavi และคณะ, 1985 ; Sjogren และคณะ, 1991) เนื่องจากคุณสมบัติช่วยส่งเสริมให้เกิดสภาวะแวดล้อมในการหายของกระดูกกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Foreman และ Barnes, 1990) สามารถละลายเนื้อเยื่อที่ตายแล้วได้เช่นเดียวกับโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ (Sodiumhypochloride ;

NaOCl) (Hasselgren, Olsson และ Cvek, 1988) และคุณสมบัติที่สำคัญมากที่สุดคือการมีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน (Bystrom, Claesson และ Sundqvist, 1985)

ผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการวิจัยนี้จะถูกทำให้ปราศจากเชื้อก่อนนำไปทำสารละลายอิ่มตัวเข้มข้นของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยการทำให้ปราศจากเชื้อ จะนำผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์นี้เข้าเครื่องทำให้ปราศจากเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตประมาณ 10 นาที ความร้อนจากแสงชนิดนี้จะมีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อทำให้เชื้อตาย (Collins, Lyne และ Grange, 1995) หลังจากนั้นผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ปราศจากเชื้อจะถูกนำมาละลายในน้ำดี-ไอออนไนซ์ตลอดคืนเพื่อให้ได้เป็นสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ การนำสารละลายอิ่มตัว ไปเข้าเครื่องเซนติฟิวก์จะทำให้ส่วนน้ำใสถูกปั่นแยกขึ้นมา ส่วนน้ำใสที่นำมาทำการวิจัยนี้จะมีประโยชน์อีกทางหนึ่ง คือช่วยในการสังเกตความขุ่นของเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ ซึ่งการกรองขั้นสุดท้ายด้วยกระดาษกรองที่มีรูกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร จะทำให้กำจัดเชื้อแบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่กว่ารูกรองได้ นั่นคือสามารถกำจัดเชื้อส่วนใหญ่ได้ เมื่อผ่านขบวนการดังกล่าวจึงมั่นใจได้ว่าสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ได้ปราศจากเชื้อ ซึ่งสามารถยืนยันผลการทดลองโดยนำสารละลายที่เตรียมได้ทำการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการทดลองจะพบว่าวิธีดังกล่าวนี้สามารถป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยพบว่าไม่มีเชื้อขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมแคลเซียมไฮดรอกไซด์วิธีนี้เป็นการเตรียมตามวิธีของ Evans และคณะ (2002) ซึ่งหลังจากเตรียมเสร็จแล้วสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ได้จะถูกนำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องพี-เอช มิเตอร์ ซึ่งการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องมือชนิดนี้ ประกอบด้วยขั้นตอนหลายขั้นตอนใช้เวลาในการทำงานมากพอสมควร จากการที่ต้องล้างขั้วไฟฟ้าให้สะอาด ทำการปรับเครื่องโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน เพื่อทดสอบความเที่ยงตรงของเครื่องมือ หลังจากวัดตัวอย่างหนึ่ง ๆ ทุกครั้ง

สารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ได้จะมีประโยชน์ในแง่การคงความเข้มข้นสูงสุด หรือความเป็นด่างมากที่สุดของสาร จากผลการทดสอบพบว่าความเป็นด่างของสารละลายอิ่มตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีค่าสูงสุดคือ 12.54 เมื่อเริ่มวัด และสามารถคงความเข้มข้นอยู่ที่ระดับมากกว่า 12.00 ได้ถึง 7 วัน หลังจาก 7 วัน ความเป็นด่างจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ จนมีค่าเหลือ 8.36 ในวันที่ 14 ดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัวจากเวลา 0 ถึง 14 วัน

การทดลองวัดค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไปใน 14 วัน ซ้ำกัน 3 ครั้ง พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกันทั้ง 3 ครั้ง ยกเว้นผลของการทำซ้ำครั้งที่ 3 พบว่าความเป็นด่างลดลงต่ำกว่า 12 ในวันที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบกับผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่นำมาผสมน้ำดี-ไอออนไนซ์ แล้วนำมาใช้ทันทีจะพบว่าความเป็นด่างสามารถมีค่าคงที่ที่มากกว่า 12.00 ได้เพียง 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเป็นด่างจะค่อย ๆ ลดลงจนเหลือประมาณ 11.00 ภายใน 2 วัน (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) ดังนั้นสารละลายอิ่มตัวเข้มข้นที่ได้จึงมีประโยชน์ในแง่ของการคงความเข้มข้นได้หลายวันรวมถึงความใสของสารที่ได้ซึ่งมีประโยชน์ในการสังเกตความขุ่นของเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ดังที่กล่าวไปแล้ว

นอกจากนั้นจากการทดลองพบว่าการเตรียมสารละลายให้ได้ระดับความเป็นกรด-ด่างอื่น ๆ คือ 12.00 ถึง 7.00 (ลดลงทีละ 0.5) ทำได้โดยการเติมน้ำดี-ไอออนไนซ์ การทดลองนี้ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงทีละ 0.5 หน่วย เนื่องจากเป็นระดับที่ค่อนข้างละเอียดแล้ว ในอนาคตถ้าสามารถพัฒนาเครื่องมือซึ่งอาจเป็น พี-เอช อินดิเคเตอร์ ที่สามารถวัดความเป็นกรด-ด่างก่อนทำการอุดคลองรากฟัน (ตามประโยชน์ของการวิจัยที่ได้กล่าวมาแล้ว) จะพบว่าอินดิเคเตอร์ที่มีความไวของการเปลี่ยนสีต่อตามนุษย์คือ 2 หน่วย (ศุภชัย, 2000) ดังนั้นการลดลงของระดับความเป็นกรด-ด่าง ทีละ 0.5 หน่วย ถือได้ว่ามีความละเอียดมาก

อย่างไรก็ตามการเจือจางความเป็นกรด-ด่างให้ลดลง เพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่างอื่น ๆ ต้องเติมน้ำดี-ไอออนไนซ์จำนวนมาก จากการทดสอบพบว่าต้องเติม

น้ำดี-ไอออนไนซ์ถึง 30 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเป็นด่างลดลง 0.5 หน่วย ดังนั้นการเตรียมสารละลายความเป็นกรด-ด่าง 12.00 จนถึง 7.00 ต้องใช้เวลาในการเตรียมนานพอสมควร

การหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

การหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทำเพื่อกำจัดผลของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่หลงเหลืออยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากเมื่อทดสอบปฏิกิริยาการฆ่าเชื้อต้องนำเชื้อที่สัมผัสกับยาไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ซึ่งอาจมีแคลเซียมไฮดรอกไซด์บางส่วนติดไปด้วย ทำให้การทดสอบผลการฆ่าเชื้ออาจผิดพลาดได้ การหยุดปฏิกิริยาจะทำโดยการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ (มีความเป็นกรดประมาณ 6.5-7.0) จนกระทั่งความเป็นด่างของยาลดลงจนถึงระดับต่ำสุดของความเป็นด่าง ที่มีผลในการฆ่าเชื้อซึ่งหาไว้แล้ว การทดลองโดยทั่วไปมักจะทำการหยุดปฏิกิริยาของสารโดยการนำเชื้อไปล้างแล้วทำการปั่นแยกเชื้อขึ้นมา แต่ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดของการใช้วิธีนี้ต่อเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากถ้าทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยวิธีนี้อาจทำให้เชื้อสัมผัสกับออกซิเจนนานไปและตายได้

ในการทดสอบนี้จะหาปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องเติมเอาไว้ล่วงหน้า เนื่องจากข้อจำกัดของเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจน จึงไม่สามารถทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วทำการวัดความเป็นกรด-ด่างในทันที เพราะการวัดความเป็นกรด-ด่างใช้เวลามากพอสมควร ซึ่งทำให้เชื้อสัมผัสกับออกซิเจนนานไปและทำให้เชื้อตายได้เช่นกัน ในการทดสอบนี้พบว่าต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 0.20 มิลลิลิตร จึงจะทำให้ความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ลดลง 0.5 หน่วย

การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ จะทำการทดสอบครั้งแรกก่อนโดยใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง 12 ค่า (12.00 ถึง 7.00 โดยลดลงทีละ 0.5 หน่วย) ต่อแบคทีเรียปริมาณหลอดละ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร (12 หลอด) โดยการทดสอบจะนำเชื้อแต่ละชนิดเติมลงในแคลเซียมไฮดรอกไซด์แต่ละค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อระยะเวลาผ่านไปแต่ละช่วง จึงทำการเพาะเชื้อ ซึ่งการวัดผลโดยสังเกตว่าเชื้อขึ้นหรือไม่ขึ้นจะดูจากการตรวจพบหรือไม่พบโคโลนีของเชื้อ ซึ่งมีความเหมาะสมในแง่ที่สามารถสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อได้ตามความเป็นจริง โดยถ้าพบว่ามีโคโลนีของเชื้อขึ้นแม้ว่าจะพบเพียงโคโลนีเดียวของเชื้อที่ใช้ทดสอบก็จะบันทึกผลว่าเชื้อขึ้น ซึ่งการวัดผลด้วยวิธีนี้จะเป็นการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของยาได้อย่างแท้จริง ซึ่งจากผลการทดสอบจะได้ค่าต่ำสุดของระดับความเป็นด่างของ

แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ แล้วนำค่าต่ำสุดนี้ไปทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อไป

การทดลองในครั้งที่สองที่มีการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยการนำเชื้อที่ผสมกับยาและทำการหยุดปฏิกิริยาของยา จะได้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อที่แท้จริง ซึ่งสามารถนำผลนี้ไปตอบคำถามของการวิจัยได้ นั่นคือสามารถทราบระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลในการฆ่าเชื้อได้

นอกจากนั้นการมีกลุ่มควบคุมบวกโดยการใช้เชื้อแบคทีเรียผสมลงไปในน้ำดี-ไอออนไนซ์ จะทำให้ทราบได้ว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตเป็นอย่างไรเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลอง นอกจากนั้นยังสามารถบอกได้อีกทางหนึ่งว่าเชื้อจะสามารถดำรงชีวิตได้ตลอดการทดลองหรือไม่

ตอนที่ 2 อภิปรายผลการทดลอง

ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ

จากผลการทดลองพบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *A. viscosus S. mitis S. aureus* และ *P. gingivalis* คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 ส่วนระดับความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อเชื้อ *E. faecalis* คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 และจากผลที่ได้สามารถสรุปได้ว่าระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อทั้ง 5 ชนิด คือ 12.00 โดยผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ เมตตจิตต์ และอมรรัตน์ (2002) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน โดยผลการศึกษาของเขาพบว่าระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *A. viscosus S. aureus* และ *E. faecalis* คือ 12.50 ซึ่งจากการที่ผลการทดลองมีความแตกต่างกัน อาจเกิดเนื่องจากปริมาณเชื้อที่ใช้และวิธีการวัดผลที่ใช้มีความแตกต่างกัน โดยจากการทดลองของ เมตตจิตต์ และอมรรัตน์ ใช้ปริมาณเชื้อ $3x10^8$ โคโลนี แต่ในการวิจัยนี้ใช้ปริมาณเชื้อเพียง 10^3 โคโลนี นอกจากนั้นการวัดผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ก็มีความแตกต่างกันโดย เมตตจิตต์ และอมรรัตน์ ใช้การดูความขุ่นของเชื้อและวัดผลว่าเชื้อขึ้นถ้าพบว่าน้ำเชื้อมีความขุ่น แต่ในการวิจัยนี้วัดผลโดยการสังเกตการขึ้นของโคโลนีของเชื้อ โดยถ้ามีการขึ้นของเชื้อที่ใช้ทดสอบเพียงโคโลนีเดียวก็จะถือว่ามีเชื้อขึ้น โดยการศึกษาของ เมตตจิตต์ และอมรรัตน์ พบว่าที่ระดับความเป็นด่าง 12.00 ไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งการที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากที่ระดับความเป็นด่าง 12.00 อาจมีเชื้อเหลืออยู่บ้างแต่เหลืออยู่เป็นปริมาณน้อย น้ำเลี้ยงเชื้อจึงไม่ขุ่นและการวัดผลจึงวัดผลว่าเชื้อไม่ขึ้น แต่ถ้านำลูบแตะเชื้อแล้วมาทำการเพาะเชื้อโดยการดูการขึ้นของโคโลนีของเชื้อ อาจมีผลทำให้เชื้อที่หลงเหลืออยู่เป็นปริมาณน้อยนั้นสามารถเจริญเติบโตได้เมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่

นอกจากนั้นพบว่าเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดก็มีความแตกต่างกัน โดย เมตตจิตต์และอมรรัตน์ พบว่าเวลาที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *A. viscosus* และ *S. aureus* คือ 1 ชั่วโมง ในขณะที่เวลาที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* คือ 6 ชั่วโมง ส่วนการวิจัยนี้พบว่าเวลาที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *A. viscosus* และ *S. aureus* คือ 6 ชั่วโมง ส่วนการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* ต้องใช้เวลาถึง 24 ชั่วโมง ซึ่งจากการที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการวัดผลการทดสอบที่แตกต่างกันเช่นกัน การวิจัยนี้วัดผลโดยดูการขึ้นของโคโลนีของเชื้อ จึงอาจเป็นไปได้ว่ากว่าที่เชื้อจะถูกทำลายได้หมดจนการเพาะเชื้อพบว่าไม่มีโคโลนีของเชื้อขึ้น ต้องใช้เวลานานกว่าที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะสัมผัสกับเชื้อ และชักนำให้เกิดการทำลายของเชื้อ

การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ก่อนการหยุดปฏิกิริยาและหลังหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน โดยระดับความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ก่อนหยุดปฏิกิริยา และหลังหยุดปฏิกิริยามีความสอดคล้องกันในเชื้อทั้ง 5 ชนิด โดยเชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* และ *P. gingivalis* คือที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10.50 ส่วนเชื้อ *E. faecalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 เพียงแต่เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อมีความแตกต่างกันในเชื้อ *E. faecalis* เพียงเชื้อเดียว โดยพบว่าเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อก่อนหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คือ 12 ชั่วโมง แต่หลังจากหยุดปฏิกิริยาแล้วต้องใช้เวลาถึง 24 ชั่วโมงในการฆ่าเชื้อ การที่ผลการฆ่าเชื้อก่อนหยุดปฏิกิริยาและหลังหยุดปฏิกิริยาไม่ค่อยมีความแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ในการทดลองนี้เป็นเพียงการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มเข้าไปในหลอดทดลองเพื่อให้ระดับความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีค่าลดลง ซึ่งการทดลองจะทำการหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์หลังจากนำเชื้อชนิดต่าง ๆ มาผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ดังนั้นผลการฆ่าเชื้ออาจเป็นผลตั้งแต่การใช้เชื้อผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ครั้งแรกแล้ว ดังนั้นจึงทำให้ผลการทดสอบที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนการที่เชื้อ *E. faecalis* ให้ผลที่แตกต่าง อาจเนื่องมาจากกลไลเฉพาะตัวในการปรับตัวของเชื้อซึ่งจะกล่าวต่อไป

จากการย้อมกรัมเพื่อยืนยันชนิดของเชื้อ พบว่าเชื้อที่ย้อมดูเป็นชนิดเดียวกับเชื้อเริ่มต้น อย่างไรก็ตามในจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อขึ้น บางครั้งพบการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นบ้าง แต่พบเป็นจำนวนน้อย ซึ่งการบันทึกผลการทดลองก็จะถือเป็น positive คือถือว่ามีการเจริญของเชื้อในขณะที่การปนเปื้อนของเชื้อพบได้เช่นกัน ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเชื้อขึ้น การบันทึกผลการทดลองก็จะบันทึกเป็น negative คือถือว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ ในกลุ่มควบคุมบวกที่ใช้น้ำดี-ไอออนไนซ์ทดสอบแทนการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ในทุกช่วงเวลา ซึ่งจาก

ผลการทดลองที่ได้จึงสามารถยืนยันได้ว่าเชื้อสามารถดำรงชีวิตได้ตลอด ช่วงเวลาที่ทำการทดสอบ และสามารถนำผลที่ได้มาใช้เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง

ในการวิจัยนี้พบว่าเชื้อส่วนใหญ่สามารถถูกทำลายโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นด่างสูง ๆ ได้ โดยพบว่าระดับความเป็นด่างที่สามารถทำลายเชื้อทั้ง 5 ชนิด คือ 12.50 ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Bystrom, Claesson และ Sundqvist (1985) ซึ่งทดสอบผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ 27 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่สามารถทำลายเชื้อได้ทุกชนิดคือระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50 นอกจากนั้นผลการทดลองยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ Barnard, Davies และ Figdor (1996) โดยเขาทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *A. israelii* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.50 สามารถทำลายเชื้อได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาทั้ง 2 การศึกษาใช้แบคทีเรียจำนวนต่างกัน โดยการศึกษาของ Bystrom และคณะ ใช้จำนวนแบคทีเรียถึง $1.5x10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนการศึกษาของ Barnard และคณะ ใช้จำนวนเชื้อเพียงแค่ 5 โคโลนี

การทำลายเชื้อแบคทีเรียของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ถูกพิจารณาว่ามีความเกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยไฮดรอกซิลอิออน ทำให้เกิดความเป็นด่างที่สูง ซึ่งเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถดำรงชีวิตได้ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่างระดับนี้ (Heithersay, 1975)

ไฮดรอกซิลอิออน เป็นอิออนที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ซึ่งสามารถมีปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลหลายชนิด (Freeman และ Crapao, 1982 อ้างถึงใน Siquira และ Lopes, 1999) ซึ่งกลไกในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อมีดังนี้ ได้แก่ การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยไฮดรอกซิลอิออนจะชักนำให้เกิดปฏิกิริยาลิปิด เพอร์รอกซิเดชั่น (Lipid peroxidation) เป็นผลให้มีการทำลายฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) ซึ่งเป็นโครงสร้างส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยไฮดรอกซิลอิออนจะนำอะตอมของไฮโดรเจน (Hydrogen atom) จากกรดไขมันไม่อิ่มตัวและให้อนุมูลของไขมันอิสระ (free lipid radical) ซึ่งจะนำเอาไฮโดรเจนอีกอะตอมหนึ่งจากกรดไขมันตัวที่สอง ดังนั้นปฏิกิริยาจึงดำเนินเป็นวงจร และมีผลทำให้เกิดการสูญเสียกรดไขมันไม่อิ่มตัว และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย (Halliwell, 1987 อ้างถึงใน Siqueira และ Lopes, 1999) นอกจากนั้นยังทำให้โปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Protein denaturation) พบว่าเมทาบอลิซึมของเซลล์ขึ้นอยู่กับเอ็นไซม์ โดยเอ็นไซม์จะทำหน้าที่ได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่แคบ หรืออยู่ที่ความเป็นกรด-ด่างกลาง ๆ ความเป็นด่างจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะชักนำให้เกิดการทำลายพันธะไอโอนิก (Ionic bond) ซึ่งเป็นตัวคงรูปร่างของเทอเชียรี่โปรตีน (Tertiary protein) ทำให้มีการแตกออกของพันธะอย่างอิสระ และในที่สุดจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสายโพลีเปปไตด์นี้ การเปลี่ยนแปลงนี้เมื่อเกิดขึ้นซ้ำ ๆ กัน มีผลทำให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติทางชีวของเอ็นไซม์ และขัดขวางกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ ในที่สุดโครงสร้างของโปรตีนจะถูกทำลายไป นอกจากกลไก

ดังที่กล่าวมา ไฮดรอกซิลอิออนยังมีผลต่อดีเอ็นเอของแบคทีเรีย โดยชักนำให้เกิดการแตกออกของสายดีเอ็นเอ เกิดการสูญเสียยีนส์ (Gene) เป็นผลทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการถอดแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) ในที่สุดทำให้เกิดการสูญเสียประสิทธิภาพของเซลล์และอนุมูลอิสระ และอาจชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ตามมา (Lethal mutation) (Imlay และ Lim, 1988 อ้างถึงใน Siqueira และ Lopes, 1999)

ดังนั้นจากกลไกในการออกฤทธิ์ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่กล่าวมา เชื้อส่วนใหญ่จึงถูกทำลายได้โดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และจากผลการทดลองพบว่าระดับของความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลในการฆ่าเชื้อมีค่าแตกต่างกัน แสดงว่าเชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่างได้ในระดับที่แตกต่างกัน และใช้เวลาต่างกัน

Padan, Zilberstein และ Schuldiner, (1981) พบว่าเชื้อแบคทีเรียสวนใหญ่มักจะเจริญได้ดีในสิ่งแวดล้อมที่มีความเป็นกรด-ด่างกลาง ๆ แต่อาจมีเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถเจริญในสิ่งแวดล้อมที่เป็นกรดสูงหรือด่างสูงได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะถูกทำลายที่ระดับความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 10.50 ซึ่งในระดับความเป็นกรด-ด่างช่วงนี้ ปริมาณของไฮดรอกซิลอิออนยังมีจำนวนมากเพียงพอที่จะทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเมื่อระดับไฮดรอกซิลอิออนลดลงต่ำกว่านี้ (ซึ่งจากการทดลองระดับไฮดรอกซิลอิออนของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ถูกทำให้เจือจางด้วยน้ำดี-ไอออนไนซ์) ทำให้ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ผลการทดลองจึงพบว่าความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับ 10.50 หรือต่ำกว่าไม่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ นอกจากนั้นในสิ่งแวดล้อมที่เป็นกรดหรือด่าง เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะพยายามคงไว้ซึ่งสมดุลของความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ และพยายามทำให้ความเป็นกรด-ด่างอยู่ภายในช่วงแคบ ๆ เพื่อที่จะทำให้เอนไซม์และโปรตีนทำหน้าที่ได้อย่างปกติ (Booth, 1985)

ความสมดุลของความเป็นกรด-ด่างขึ้นอยู่กับหลักการที่สำคัญ 2 อย่าง หลักการแรกคือ Passive function ซึ่งประกอบด้วยการที่เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียมีการซึมผ่านของผนังเซลล์ที่ต่ำต่ออิออนหรือประจุต่าง ๆ และการมีระบบบัฟเฟอร์ของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) หลักการที่สองคือ Active mechanism ซึ่งมีหน้าที่ส่วนใหญ่ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของประจุบวก (Cations) ได้แก่ โปแตสเซียม และโปรตอน ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Evans และคณะ, 2002)

ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นกรด ระบบ cation antiport จะพยายามเพิ่มระดับความเป็นด่างภายในเซลล์โดยไล่โปรตอนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนในสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่าง ประจุบวกหรือโปรตอนจะถูกปั๊มเข้ามาในเซลล์เพื่อทำให้ความเป็นด่างภายในเซลล์ต่ำลง ดังนั้นจากการทดลองที่ได้แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดอาจมีความสามารถในการบัพเฟอร์ หรือปั๊มโปรตอนที่แตกต่างกัน จึงทำให้เชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด-ด่าง แตกต่างกัน

ผลจากการที่เชื้อ *E. faecalis* มีความสามารถทนทานต่อความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้มากกว่า 11.50 ในการทดลองครั้งนี้มีความสอดคล้องกับผลการทดลอง Bystrom, Claesson และ Sundqvist, (1985) โดยการศึกษาพบว่าอัตราการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* ขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรด-ด่าง โดยเชื้อไม่สามารถดำรงชีวิตได้ที่ความเป็นด่างสูงกว่า 11.50 นอกจากนั้นการศึกษาของ Stevens และ Grossman (1983) พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถทำลายเชื้อ *E. faecalis* ได้ที่ระดับความเป็นด่างสูงถึง 11.80 เมื่อเปรียบเทียบกับแคมโฟเรเตดคลอโรฟีนอล (camphorated chlorophenol) ซึ่งพบว่าสามารถทำลายเชื้อนี้ได้

การศึกษาหลายการศึกษาพยายามจะศึกษาถึงขบวนการที่เชื้อ *E. faecalis* มีความต้านทานต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ การศึกษาของ Hartke และคณะ (1998 ; อ้างถึงใน Evans และคณะ, 2002) พบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้หลายชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความร้อนสูง สภาวะที่เป็นกรดหรือด่างสูง ๆ สภาวะที่ขาดอาหาร หรือสภาวะที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรด์ การศึกษาของ Evans และคณะ (2002) เกี่ยวกับขบวนการที่เชื้อชนิดนี้มีความต้านทานต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยศึกษาผลของการสร้างโปรตีนและผลของการปั๊มโปรตอน พบว่าการดำรงชีวิตของเชื้อนี้ในแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ไม่มีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์โปรตีนแต่หน้าที่ของการปั๊มโปรตอนมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเชื้อ จากการศึกษาพบว่าเมื่อมีการยับยั้งการปั๊มโปรตอนของเชื้อจะทำให้เชื้อตายได้ถึง 20 เท่าจากปริมาณเริ่มต้น ดังนั้นขบวนการปั๊มโปรตอนจึงมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเชื้อ ในทำนองเดียวกันเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นน่าจะมีกลไกการปั๊มโปรตอนเข้าสู่เซลล์ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นด่างเช่นเดียวกัน แต่ความสามารถในการปั๊มโปรตอน อาจต่ำกว่าเชื้อ *E. faecalis* จึงทำให้เชื้อมีความทนทานในสภาวะเป็นด่างได้น้อยกว่า

นอกจากระดับความเป็นกรด-ด่างมีผลในการฆ่าเชื้อ เวลาที่ใช้ในการทดสอบก็มีผลต่อการฆ่าเชื้อเช่นเดียวกัน จากการทดลองพบว่าที่เวลาต่ำกว่า 6 ชั่วโมง แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถฆ่าเชื้อตัวใดได้เลย ส่วนการฆ่าเชื้อของ *A. viscosus* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลา 6 ชั่วโมง ในขณะที่ *S. mitis* ใช้เวลา 12 ชั่วโมง *S. aureus* และ *P. gingivalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลาถึง 12 ชั่วโมง ส่วนที่ความเป็นกรด-ด่าง 11.50 ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมง ส่วนเชื้อ *E. faecalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.00 ใช้เวลาถึง 24 ชั่วโมง ผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sjogren และคณะ (1991) ที่ว่าเวลาที่ใส่ยาในคลองรากมีผลต่อการฆ่าเชื้อ โดยพบว่าการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟันเป็นเวลา 10 นาที ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ในขณะที่การใส่ยาเป็นเวลา 7 วัน สามารถกำจัดเชื้อที่เหลืออยู่หลังจากขยายคลองรากได้ ซึ่งจากการที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้ อาจเนื่องมาจากการสัมผัสของเชื้อกับยาอาจจะต้องใช้เวลานานเพียงพอที่จะชักนำให้เกิดการทำลายเชื้อ

และเชื้อแต่ละชนิดอาจมีความสามารถในการคงสมดุลของความเป็นกรด-ด่างภายในที่แตกต่างกัน หรือการมีความสามารถในการบัฟเฟอร์ หรือการปั๊มโปรตอนที่แตกต่างกันดังที่ได้กล่าวไปแล้ว นอกจากนั้นความเข้มข้นของไฮดรอกซิลอิอนในสารละลายก็มีความสำคัญโดยพบว่ายิ่งไฮดรอกซิลอิออนมีความเข้มข้นน้อยลง ความเป็นด่างก็จะน้อยลง เชื้อก็จะสามารถดำรงชีวิตได้นานขึ้น เช่น จากผลการทดลองจะพบว่าเชื้อ *S. aureus* และ *P. gingivalis* ที่ความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ต้องใช้เวลานานถึง 12 ชั่วโมง จึงจะฆ่าเชื้อได้ ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่าง 11.50 ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมง ซึ่งที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 น้อยกว่าระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.50 ดังนั้นความเข้มข้นของไฮดรอกซิลอิออนย่อมน้อยกว่า การฆ่าเชื้อจึงอาจใช้เวลานานกว่า

นอกจากนั้นการที่ผลการทดสอบต่อเชื้อทั้ง 4 ชนิด ได้แก่เชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* และ *P. gingivalis* มีความสอดคล้องหรือให้ผลเหมือนกับผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แสดงว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่หลงเหลืออยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเหล่านี้ ในขณะที่เชื้อ *E. faecalis* พบว่าผลการทดลองไม่สอดคล้องกันกับผลการฆ่าเชื้อหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ คือใช้เวลาต่างกัน (ผลการฆ่าเชื้อคือที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 11.50 ใช้เวลา 12 ชั่วโมง แต่หลังจากหยุดปฏิกิริยาแล้วระดับความเป็นกรด-ด่างที่สามารถฆ่าเชื้อ คือสูงกว่า 11.50 เช่นเดียวกันแต่ใช้เวลา 24 ชั่วโมง) ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่หลงเหลืออยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *E. faecalis* การทำลายเชื้อจึงใช้เวลาน้อยกว่าและการที่ผลหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว มีความแตกต่างกันระหว่างเชื้อ *E. faecalis* และเชื้อทั้ง 4 ชนิด (*A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* และ *P. gingivalis*) อาจเกิดเนื่องจากเมื่อหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว เชื้อ *E. faecalis* มีความสามารถในการปรับตัวได้มากกว่าเชื้อชนิดอื่น นั่นคือความสามารถปั๊มโปรตอนเข้ามาในเซลล์ได้ดีกว่า ดังนั้นเชื้อจึงสามารถดำรงชีวิตได้อีกระยะหนึ่งคือ ดำรงชีวิตได้ถึง 24 ชั่วโมง ในขณะที่เชื้อชนิดอื่นความสามารถในการปั๊มโปรตอนอาจจะเสียไปแล้ว ดังนั้นเมื่อหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้วก็ยังคงใช้เวลาเท่าเดิมในการทำลายเชื้อ

อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่า ผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ต่อเชื้อ *S. aureus* มีความไม่สอดคล้องกัน 1 ครั้ง นั่นคือที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมง ในการทำลายเชื้อ ในขณะที่ผลการทดลองอีก 2 ครั้ง พบว่าที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ต้องใช้เวลาถึง 12 ชั่วโมง ซึ่งจากการที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความสามารถในการปรับตัวเช่นเดียวกัน คือเชื้ออาจอยู่ในช่วงที่ไม่ active หรือความสามารถในการปั๊มโปรตอนอาจสูญเสียไปแล้ว ดังนั้นการทำลายเชื้อจึงใช้เวลาน้อยกว่า ในทำนองเดียวกันกับเชื้อ *P. gingivalis* การที่ผลการทดลองไม่สอดคล้องกัน 1 ครั้ง นั่นคือที่ระดับความเป็น

กรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมง ในขณะที่ผลการทดลองอีก 2 ครั้ง พบว่าความเป็นกรด-ด่างระดับเดียวกันแต่ใช้เวลามากกว่าคือ 12 ชั่วโมง อาจอธิบายได้เช่นเดียวกับผลที่คาดว่าเกิดจากเชื้อ *S. aureus*

ส่วนผลการทดสอบต่อเชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีความไม่สอดคล้องกัน 1 ครั้ง นั่นคือที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.00 และ 12.50 แคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถทำลายเชื้อได้โดยใช้เวลาถึง 24 ชั่วโมง ในขณะที่ผลการทดลองอีก 2 ครั้ง พบว่าที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.00 และ 12.50 ใช้เวลาเพียง 12 ชั่วโมง ซึ่งจากการที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความสามารถในการปรับตัวต่อสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรด-ด่างนั่นคือเชื้ออาจอยู่ในช่วง active คือความสามารถในการปั๊มโปรตอนยังสมบูรณ์อยู่ ดังนั้นจึงต้องใช้เวลามากกว่าในการทำลายเชื้อ

ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของเชื้อในสภาวะแวดล้อมที่ต่างกันไป หรือระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่ต่างกันไป ปัจจัยแรกได้แก่ความเข้มข้นของไฮดรอกซิลอิออนในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจะบ่งบอกได้โดยระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยความเข้มข้นของไฮดรอกซิลอิออนยิ่งมาก ระดับความเป็นด่างยิ่งสูงเชื้อก็จะถูกทำลายได้มากตามกลไกที่ได้กล่าวไปแล้ว (Siqueira และ Uzeda, 1998 ; Heithersay, 1975) ปัจจัยที่สองได้แก่ความสามารถในการปรับตัวต่อสภาวะที่เป็นด่างสูง โดยถ้าเชื้อมีกลไกในการปรับตัวมาก เช่น มีระบบการปั๊มโปรตอนที่ดี เชื้อก็จะสามารถดำรงชีวิตในสภาวะที่เป็นด่างสูง ๆ ได้ (Evans และคณะ, 2002) ปัจจัยที่สามได้แก่เวลา โดยการฆ่าเชื้อต้องมีเวลาเพียงพอที่เชื้อจะสัมผัสกับยาและชักนำให้เกิดการทำลายของเซลล์ของเชื้อในที่สุด (Sjogren และคณะ, 1991)

ตอนที่ 3 การอภิปรายอื่น ๆ

ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ทำให้ทราบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างที่สามารถทำลายเชื้อส่วนใหญ่ได้คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 ในทางคลินิกสามารถควบคุมระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ให้สูงกว่า 12.00 ได้ เพียงใช้ปริมาณของส่วนผง : ส่วนน้ำ เท่ากับ 1 : 0.7 (Panopoulos และ Kontakiotis, 1990) ซึ่งความเป็นกรด-ด่างระดับนี้สามารถทำลายเชื้อได้แน่นอน แต่อย่างไรก็ตามระดับความเป็นกรด-ด่างขนาดนี้อาจมีการเปลี่ยนไป เนื่องจากระบบบัฟเฟอร์ของเนื้อฟัน หรือสภาพของคลองรากฟันดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ทำให้ความเป็นด่างสูงไม่เพียงพอทีจะฆ่าเชื้อได้

นอกจากนั้นการศึกษาของ Nerwich และคณะ (1993) ซึ่งศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างในเนื้อฟันที่ใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 4 อาทิตย์ พบว่าที่เวลา 1 ชั่วโมง ระดับความเป็นกรด-ด่างสามารถพบได้ในเนื้อฟันส่วนต้นคือ 10.80

ในขณะที่เนื้อฟันส่วนปลายรากมีระดับความเป็นกรด-ด่างเพียง 9.70 และเมื่อเวลาเปลี่ยนไปจนกระทั่ง 4 อาทิตย์ พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างลดลงเหลือ 10.32 ในเนื้อฟันส่วนต้นและ 9.39 ในเนื้อฟันส่วนปลาย ส่วนการศึกษาของ เมตตจิตต์ และอมรรัตน์ (1999) ศึกษาผลของ smear layer ต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของเนื้อฟันส่วนราก หลังจากใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 0, 7 และ 14 วัน พบว่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่า 8.20 ในวันที่ 0 และ 8.53, 9.03 ในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ นอกจากนั้นการศึกษาของ Tronstad และคณะ (1981) พบว่าระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใส่ในคลองรากฟันจะมีค่าลดลงเรื่อย ๆ จากบริเวณกึ่งกลางคลองรากฟันจนถึงเนื้อฟันในส่วนใกล้ซีเมนตัม (Cementum) (12.20 ไปจนถึง 8.00) ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟันเป็นระยะเวลานานของ Esberard และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของเนื้อฟันที่ใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าที่เวลา 3 เดือน ความเป็นกรด-ด่างยังคงมีค่ามากกว่า 10.00 แต่ไม่เกิน 11.00

ดังนั้นจากการศึกษาข้างต้นทั้งหมดจึงอาจกล่าวได้ว่าระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดอรกไซด์ในเนื้อฟันส่วนใหญ่รวมถึงการใส่ยาในคลองรากฟันเป็นเวลานาน (Long-term medication) อาจไม่สามารถทำลายเชื้อได้ทุกชนิด แต่อย่างไรก็ตามในสถานการณ์ในคลินิกจริง ๆ ความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ผสมเสร็จใหม่ ๆ มีค่าสูงเพียงพอที่จะทำลายเชื้อได้ เชื้อจึงอาจถูกทำลายไปในช่วงต้นที่ใส่ยาแล้ว แต่เมื่อเวลานานขึ้นความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอาจทำให้เชื้อแบคทีเรียบางชนิดเจริญเติบโตขึ้นมาใหม่ได้ ดังนั้นการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟันก็ยังคงมีความสำคัญซึ่งนอกจากประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแล้วแคลเซียมไฮดรอกไซด์ยังสามารถทำหน้าที่เป็นตัวกันในคลองรากฟันไม่ให้มีการติดเชื้อซ้ำขึ้นมาใหม่ ป้องกันการแบ่งตัวของเชื้อ และทำให้เกิดสภาพที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อ ซึ่งทำให้เกิดผลสำเร็จในการรักษาตามมา

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการฆ่าเชื้อของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนในห้องปฏิบัติการครั้งนี้พบว่า ระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลในการฆ่าเชื้อ *A. viscosus* *S. mitis* *S. aureus* *P. gingivalis* คือ 11.00 ส่วนระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* คือ 12.00 ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกันกับผลการทดสอบหลังจากหยุดปฏิกิริยาของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว นอกจากนั้นพบว่าเชื้อจะถูกฆ่าโดยใช้เวลาที่แตกต่างกัน โดยเชื้อ *A. viscosus* ใช้เวลา 6 ชั่วโมง เชื้อ *S. mitis* ใช้เวลา 12 ชั่วโมง เชื้อ *S. aureus* และ

P. gingivalis ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.00 ใช้เวลา 12 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 11.50 ใช้เวลา 6 ชั่วโมง เชื้อ *E. Faecalis* ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 12.00 ใช้เวลา 24 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ข้อสรุปว่าระดับความเป็นด่างที่ต่ำที่สุดของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลในการฆ่าเชื้อคือ 12.00 ดังนั้นในอนาคตถ้าต้องการหาเครื่องมือที่สามารถวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในคลองรากฟัน เครื่องมือนั้นควรมีความสามารถในการวัดระดับความเป็นกรด-ด่าง หรือมีจุดสังเกตความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไปได้อย่างน้อยถึงความเป็นกรด-ด่าง 12.00 เพื่อมั่นใจว่ามีเชื้อหลงเหลือในคลองรากฟันน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตามชนิดของเชื้อที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้อาจมีจำนวนน้อยเกินไปทั้งเชื้อที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน ดังนั้นในอนาคตอาจมีการทดลองเช่นเดียวกันนี้ แต่ทดสอบกับเชื้อหลาย ๆ ชนิด เพื่อหาค่าความเป็นด่างที่ต่ำสุดที่มีผลในการฆ่าเชื้อในคลองรากฟันที่แท้จริง และผลการวิจัยนี้ทำให้ทราบว่าระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่มีผลในการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* คือระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 11.50 แต่เนื่องจากความเป็นด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ระดับนี้อาจลดลงได้ เช่น จากผลของระบบบัฟเฟอร์ของเนื้อฟัน หรือสภาพของคลองรากฟัน ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป โดยมีการศึกษาวิจัย เช่น การพยายามจะรักษาหรือคงระดับความเป็นกรด-ด่างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ให้มีค่าคงที่ประมาณ 12.00 ถึง 12.50 ถึงแม้ว่าจะมีของเหลวเลือด หรือเอกซูเดท ที่เกิดจากปฏิกิริยาการอักเสบในคลองรากฟัน หรือการหาวิธีที่จะกำจัดเชื้อ *E. faecalis* จากคลองรากฟัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เมตตจิตต์ นวจินดา ; และ อมรรัตน์ บุญศิริ. ผลของ Smear Layer ต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของ เนื้อฟันส่วนราก หลังจากใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์. ว. ทันต. จุฬาฯ 22 (1999) : 161-166.

ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์. ปฏิบัติการเคมีปริมาณวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543

อังสนา ใจแน่น ; เมตตจิตต์ นวจินดา ; และ รัตน์ เสรีนิราช. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของแคลเซียม ไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ. ว. ทันต. จุฬาฯ 25 (2002) : 161-173.

ภาษาอังกฤษ

Abou-Rass, M. ; and Bogen, G. Microorganisms in closed periapical lesions. Int Endod J 31 (1998) : 39-47.

Andersen, M. ; Lund, A. ; Andreasen, J.O. ; and Andreasen, F.M. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. Endod Dent Traumatol 8(1992) : 104-108.

Barbosa, C.A.M. ; Goncalves,R.B. ; Siqueira, J.F. ; and Uzeda, M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medication. A clinical and laboratory study. J Endod 23 (1997) : 297-300.

Barnard, D. ; Davies, J. ; and Figdor, D. Susceptibility of *Actinomyces israelli* to antibiotics, sodium hypochlorite and calcium hydroxide. Int Endod J 29 (1996) : 320-326.

Baumgartner, J.C. ; and Falkler, W.A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. J Endod 17 (1991) : 380-386.

Baumgartner, J.C. ; and Hutter, J.W. Endodontic microbiology and treatment of infections. In : Cohen, S. ; and Burns, R. eds. Pathways of the pulp. Chapter 13. 8th ed. St. Louis, USA : Mosby (2002) : 501-519.

Behbehani, M.J. ; and Jordan, H.V. Comparative pathogenicity of *Actinomyces* species in mice. J Med Microbial 15 (1982) : 465-473.

Behnen, M.J. ; West, L.A. ; Liewehr, F.R. ; Buxton, T.B. ; and McPherson, J.C. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root dentin. J Endod 12 (2001) : 765-767.

Bergenholtz, G. Pathogenic mechanisms in pulpal disease. J Endod 16 (1990) : 98-101.

Bogenand, G. ; and Slots, J. Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. Int Endod J 32 (1999) : 204-210.

Booth, I. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Micro Biol Rev 49 (1985) : 359-378.

Borssen, E. ; and Sundqvist, G. *Actinomyces* of infected dental root canals. Oral Surg 51 (1981) : 643-648.

Bystrom, A. ; Claesson, R. ; and Sundqvist, G. The antimicrobial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. Endod Dent Traumatol 1 (1985) : 170-175.

Bystrom, A. ; Happonen, R.P.U. ; and Sundqvist, G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. Endod Dent Traumatol 3 (1987) : 58-63.

Bystrom, A. ; and Sundqvist, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res 89 (1981) : 321-328.

Bystrom, A. ; and Sundqvist, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J 18 (1985) : 35-40.

Carlsson, J. ; Herrmann, B.F. ; Hofling, J.F. ; and Sundqvist, G.K. Degradation of the human proteinase inhibitors alpha-1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin by *Bacteroides gingivalis*. Infect Imune 43 (1984) : 644-648.

Chong, B. S. ; and Pittford, T. R. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J 25 (1992) : 97-106.

Cohen, F. ; and Lasfargues, J. J. Quantitative chemical study of root canal preparations with calcium hydroxide. Endod Dent Traumatol 4 (1988) : 108-113.

Collins, C. H.; and Lyne, P. M. Counting methods. In : Grange, J.M. Microbiology methods. Chapter 10. 7th ed. Linacre House, Jordan Hill, London : Butterwarth-Heinemann Ltd. (1995) : 149-162.

Dahlen, G. ; and Bergenholtz, G. Endotoxin activity in teeth with necrotic pulps. J Dent Res 6 (1980) : 1033-1040.

Dahlen, G. ; and Haapasalo, M. Microbiology of apical periodontitis In : Orstavik, D. ; and Pitt Ford, T.R. Essential endodontology. Chapter 5. London : Black well Science (1998) : 106-130.

Dahlen, G. ; and Moller, A.J.R. Microbiology of endodontic infections. In : Slots, J. ; and Taubman, M.A. eds. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. St. Louis, USA : Mosby (1992) : 444-475.

Doran, M.G. ; and Radke, P.K. A review of endodontic medicaments. Gen Dent 64 (1998) : 484-490.

Elmer, W. K. ; Stephen, D. A. ; William, M. J. ; Paul, C. S. ; and Washington, C. W. J. The Anaerobic bacteria In : Winters, R. Introduction to Diagnostic microbiology. Chapter 11. J.B. Lippincott Company, East Washington Square, Philadephia (1994) : 243-284.

Estrela, C. ; Estrela, C.R.A. ; Bammann, L.L. ; and Pecora, J.D. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. J Endod 27 (2001) : 720-723.

Esberard, R.M. ; Carnes, D.L. ; and Rio, C.E. Changes in pH at the dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. J Endod 22 (1996) : 402-405.

Estrela, C. ; Pimenta, F.C. ; Ito, I.V. ; and Bammann, L.L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. J Endod 24 (1998) : 15-17.

Evans, M. ; Davies, K. ; Sundqvist, G. ; and Figdor, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J 35 (2002) : 221-228.

Fabricius, L. ; Dahlen, G. ; Holm, S. E. ; and Moller, A.J. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. Scand J Dent Res 90 (1982) : 200-206.

Fabricius, L. ; Dahlen, G. ; Ohman, A. E. ; and Moller, A. J. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. Scand J Dent Res 90 (1982) : 134-144.

Farber, P. ; and Seltzer, S. Endodontic microbiology. J Endod 14 (1988) : 363-371.

Figdor, D. ; Sjogren, U. ; Sorlin, S. ; Sundqvist, G. ; and Nair, P.N.R. Pathogenicity of *Actinomyces israelii* and *Arachnia propionica* : experimental infection in guinea pigs and phagocytosis and intracellular killing by human polymophonuclear leukocytes in vitro. Oral Microbiol Immunol 7 (1992) : 129-136.

Filho, M.T. ; Leonardo, M.R. ; and Silva, L.A.B. Effect of irrigating solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. J Endod 28 (2002) : 295-299.

Frank, A. Resorption, perforation and fracture. Dent Clin North Am 18 (1974) : 465-487.

Frank, A. ; and Weine, F. Nonsurgical therapy for the perforative defect of internal resorption. J Am Dent Assoc 87 (1973) : 863-868.

Frosten, L. ; and Solderling, E. The alkaline and Antibacterial effect of seven $Ca(OH)_2$ liner in vitro. Acta Odontol Scand 42 (1984) : 93-98.

Freeman, B. A. ; and Crapo, J. D. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. Laboratory investigation. cited in Siqueira, J. F. ; and Lopes, H. P. Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. Int Endod J 32 (1999) : 361-369.

Foreman, P.C. ; and Barnes, F. A review of calcium hydroxide. Int Endod J 23(1990) : 283-297.

Gatti, J.J. ; Dobeck, J.M. ; Smith, C. ; White, R.R. ; Socransky, S.S. ; and Skobe, Z. Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA-DNA hybridization. Endod Dent Traumatol 16 (2002) : 197-204.

Gencoglu, N. ; and Kulekci, G. Antimicrobial efficacy of root canal medicaments. J Endod 34 (1992) : 233-236.

Georgopoulou, M. ; Kontakiotis, E. ; and Nakou, M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. Endod Dent Traumatol 9 (1993) : 249-253.

Gomes, B.P. ; Lilley, J.D. ; and Drucker, D.B. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. Int Endod J 29 (1996) : 235-241.

Haapasalo, M. *Bacteroides spp*. In dental root canal infections. Endod Dent Traumatol 5 (1989) : 1-10.

Haapasalo, M. ; and Orstavik, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res 66 (1987) : 137-159.

Haapasalo, M. ; Ranta, H. ; and Ranta, K.T. Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. Acta Odontol Scand 41 (1983) : 19-22.

Halliwell, B. Oxidants and human disease : some new concepts. cited in Siqueira, J. F. ; and Lopes, H. P. Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. Int Endod J 32 (1999) : 361-369.

Hank, C.T. ; Bergenholtz, G. ; and Kim, J.S. Protein synthesis in vitro, in the presence of $Ca(OH)_2$ containing pulp caping medicaments. J Oral Pathol 12 (1984) : 356-365.

Hartke, A. ; Giard, J. C. ; Laplace, J. M. ; and Auffray, Y. Survival of *Enterococcus faecalis* in an oligotrophic microcosm : Changes in morphology development of general stress resistance and analysis of protein synthesis. cited in Evans, M. ; Davies, J. K. ; Sundqvist, G. ; and Figdor, D. Mechanism involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J 35 (2002) : 221-228.

Hashioka, K. ; Yamasaki, M. ; Nakane, A. ; Horiba, N. ; and Nakamura, H. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. J Endod 18 (1992) : 558-561.

Hasselgren, G ; Olsson, B. ; and Cvek, M. Effects of Calcium hydroxide on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. J Endod 14(1988) : 125-127.

Heithersay, G. S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J British Endod Soc 8 (1975) : 74-92.

Heling, I. ; Steinberg, D. ; Kenig, S. ; Gavrilovich, I. ; Sela, M.N. ; and Friedman, M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and $Ca(OH)_2$ in preventing secondary infection of dentinal tubules. Int Endod J 25 (1992) : 20-24.

Imlay, J. A. ; and Linn, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. cited in Siqueira, J. F. ; and Lopes, H. P. Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. Int Endod J 32 (1999) : 361-369.

Iwu, c. ; MacFarlane, T. W. ; MacKenzie, D. ; and Stenhouse, D. The microbiology of periapical granulomas. Oral Surg 69 (1990) : 502-507.

Jung, H. ; et al. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. J Endod 26 (2000) 599-604.

Kakehashi, S. ; Stanley, H.R. ; and Fitzgerald, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free conventional laboratory rats. Oral Surg 20 (1965) : 340-344.

Kapsimalis, P. ; Garrington, G.E. ; and Summit, N.J. Actinomycosis of the periapical tissues. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 26 (1968) : 374-380.

Kerekes, K. ; Heide, S. ; and Jacobsen, I. Follow-up examination of endodontic treatment in traumatized juveniles incisor. J Endod 6(1980) : 744-748.

Kerekes, K. ; and Tronstad, L. Long term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. J Endod 5 (1979) : 83-90.

Kilian, M. Degradation of immunoglobulins A_1, A_2 and G by suspected principle periodontal pathogens. Infect Imune 34 (1981) : 757-765.

Kirk. ; Othmer. Encyclopedia of chemical technology. 2nd ed. New York : John Wiley & SONS. Inc. 12 (1968) : 415-431.

Korzen, B. H. ; Krakow, A. A. ; and Green, D. B. Pulpal and periapical tissue responses in conventional and monoinfected gnotobiotic rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 37 (1974) : 783-802.

Marsh, P. D. ; Mckee, A. S. ; and McDermid, A. S. Continuous culture study. In : Shah, H.N. ; Mayrand, D, ; and Genco, R. J. eds. Biology of the species Porphyromonas gingivalis. Boca Raton, FL : CRC Press. (1993) : 105-123.

McDermid, A.S. ; McKee, A.S. ; and Marsh, P.D. Effect of environmental pH on enzyme activity and growth of *Bacteroides gingivalis* W50. Infect Immune 56 (1988) : 1096-1100.

Moller, A. J. ; Fabricius, L. ; Dahlen, G. ; Ohman, A. E. ; and Heyden, G. Influence on periapical tissue of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Scand J Dent Res 89 (1981) : 475-484.

Nair, P.N.R. ; and Schroeder, H.E. Periapical actinomycosis. J Endod 12 (1984) : 567-570.

Nerwich, A. ; Figdor, D. ; and Messer, H.H. pH changes in root dentin over 4-weeks period following root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod 19 (1993) : 302-306.

Nilsson, T. ; Carlsson, J. ; and Sundqvist, G. Inactivation of key factors of the plasma proteinase cascade systems by *Bacteroides gingivalis*. Infect Immune 50 (1985) : 467-471.

Oguntebi, B. ; Slee, A.M. ; Tanzer, J.M. ; and Langeland, K. Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. J Clin Microbiol 15 (1982) : 964-966.

Orstavik, D. ; and Haapasalo, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol 6 (1990) : 142-149.

Orstavik, D. ; Kerekes, K. ; and Molven, O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacteria infection during treatment of apical periodontitis : a pilot study. Int Endod J 24 (1991) : 1-7.

Padan, E. ; Zilberstein, D. ; and Schuldiner, S. pH homeostasis in bacteria. Biochimica et Biophysica Acta 650 (1981) : 151-166.

Panopoulos, P. ; and Kontakiotis, E. Changes in pH and weight of calcium hydroxide paste. Int Endod J 23 (1992) : 56-57.

Pantera, E.A. ; Zambon, J. J. ; and Shih-Levine, M. Indirect immunofluorescence for the detection of *Bacteroides* species in human dental pulp. J Endod 14 (1988) : 218-223.

Rocas, I.N. ; Siqueira, J.F. ; Santos, K.R.N. ; and Coelho, M.A. Red complex (*Bacteroides forsythus*, *Porphylomonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic

infections : A molecular approach. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 91 (2001) : 468-471.

Safavi, K.E. ; and Dowden, W. E. ; Introcaso, J. H. ; and Langeland, K. A comparison of antimicrobial effect of calcium hydroxide and iodine potassium iodide. J Endod 11(1985) : 454-456.

Safavi, K.E. ; and Nichols, F.C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. J Endod 20 (1994) : 127-129.

Safavi, K.E. ; Spangberg, L.S.W. ; and Langeland, K. Root canal dentinal tubule disinfection. J Endod 16 (1990) : 207-210.

Seltzer, S. ; and Farber, P.A. Microbiologic factor in endodontology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 78 (1994) : 634-645.

Silva, L.A.B. ; Nelson-Fiho, P. ; Leonardo, M.R. ; Rossi, M.A. ; and Pansani, C.A. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo J Endod 28 (2002) : 94-98.

Siqueira, J.F. ; Rocas, I. N. ; Oliveira, J.C.M. ; and Santos, K.R.N. Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. J Endod 27 (2001) : 563-566.

Siqueira, J. F. ; and Lopes, H. P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. Int Endod J 32 (1999) : 361-369.

Siqueira, J.F. ; Rocas, I.N. ; Santos, S.R.L.D. ; Lima, K.C. ; Magalhaes, F.A.C. ; and Uzeda, M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod 28 (2002) : 181-184.

Siqueira, J.F. ; Rocas, J.N. ; Souto, R. ; Bmic ; Uzeda, M. ; and Colombo, A.P. *Actinomyces species*, *Streptococci*, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. J Endod 28 (2002) : 168-172.

Siqueira, J. F. ; and Uzeda, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and facultative anaerobic bacteria. J Endod 22 (1996) : 674-676.

Siqueira, J.F. ; and Uzeda, M. Influence of different vehicles on the antimicrobial effect of calcium hydroxide J Endod 24(1998) : 663-665.

Siren, E.K. ; Haapasalo, M.P.P. ; Ranta, K. ; Salmi, P. ; and Kerosuo, E.N.J. Microbiological finding and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. Int Endod J 30 (1997) : 91-95.

Sjogren, U. ; Figdor, D. ; Spangberg, L. ; and Sundqvist, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 24 (1991) : 119-125.

Sjogren, U. ; Hanstrom, L. ; Happonen, R. P. ; and Sundqvist, G. Extensive bone loss associated with periapical infection with *Bacteroides gingivalis* : a case report. Int Endod J 23 (1990) : 254-262.

Stashenko, P. ; and Teles, R. Periapical inflammatory responses and their modulation. Crit Rev Oral Biol Med 9 (1998) : 498-521.

Steffen, E.K. ; and Hentges, D. J. Hydrolytic enzymes of anaerobic bacteria isolated from human infections. J Clin Microbiol 14 (1981) : 153-156.

Stevens, R. H. ; and Grossman, L.I. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. J Endod 9 (1983) : 372-374.

Stuart, K. G. ; Miller, C. H. ; Brown, C. E. ; and Newton, C. W. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 72 (1991) : 101-104.

Sunde, P. T. ; Olzen, I. ; Debelian, G. J. ; and Tronstad, L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. J Endod 28 (2002) : 304-310.

Sundqvist, G. Associated between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol Immunol 7 (1992) : 257-262.

Sundqvist, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 78 (1994) : 522-530.

Sundqvist, G. ; Bloom, G.D. ; Enberg, K. ; and Johansson, E. Phagocytosis of *Bacteroides melaninogenicus* and *Bacteroides gingivalis* in vitro by human nutrophils. J Perio Res 17 (1982) : 113-121.

Sundqvist, G. ; Figdor, D. ; Persson, S. ; and Sjogren, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Patho Radiol Endod 85 (1998) : 86-93.

Sundqvist, G. ; Johansson, E. ; and Sjogren, U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. J Endod 15 (1989) : 13-19.

Tagger, M. ; and Tagger, E. Pulp capping in monkeys with reolite and life, two calcium hydroxide bases with different pH. J Endod 11 (1985) : 394-400.

Takehashi, N. ; and Schachlele, C. F. Effect of pH on the growth and proteolytic activity of *Porphylomonas gingivalis* and *Bacteroides intermedius*. J Dent Res 69 (1990) : 1266-1269.

Tronstad, L. Recent development in endodontic research. Scand J Dent Res 100 (1992) : 52-59.

Tronstad, L. ; Andreasen, J. O. ; Hasselgren, G. ; Kristerson, L. ; and Riis, I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. J Endod 7(1981) : 17-21.

Tronstad, L. ; Cervone, F. ; and Barnett, F. Periapical bacteria plaque in teeth refractory to endodontic treatment. Endod Dent Traumatol 6 (1990) : 73-77.

van Steenbergen, J. J. M ; Kastelein, P. ; Touw, J. J. A. ; and Graaff, J. Virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains from periodontal pockets and other sites in experimentally induced skin lesions in mice J Perio Res 17 (1982) : 41-49.

van Winkelhoff, A. J. ; Carlee, A. W. ; and Graaff, J. *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented Bactroides species in odontogenic abscesses. Infect Immune 49 (1985) : 494-497.

Wang, J. D. ; and Hume, W. R. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources though dentine. Int Endod J 21 (1988) : 17-26.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 แสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *A. viscosus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จำนวนโคโลนี / ครั้งที่	ความเข้มข้นของการทำให้เจือจาง				
	1:10	1:100	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	α	350	25	3	-
2	α	288	32	4	-
3	α	325	41	3	-
ค่าเฉลี่ย	α	321	32.66	3.33	-

α = จำนวนโคโลนีของเชื้อมีปริมาณมากจนไม่สามารถนับได้,

\- = ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ

ตารางที่ 14 แสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. mitis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จำนวนโคโลนี / ครั้งที่	ความเข้มข้นของการทำให้เจือจาง				
	1:10	1:100	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	α	α	483	42	5
2	α	α	591	54	8
3	α	α	589	47	6
ค่าเฉลี่ย	α	α	554.33	47.66	6.33

α = จำนวนโคโลนีของเชื้อมีปริมาณมากจนไม่สามารถนับได้

ตารางที่ 15 แสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จำนวนโคโลนี / ครั้งที่	ความเข้มข้นของการทำให้เจือจาง				
	1:10	1:100	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	α	α	α	α	391
2	α	α	α	α	657
3	α	α	α	α	542
ค่าเฉลี่ย	α	α	α	α	530

α = จำนวนโคโลนีของเชื้อมีปริมาณมากจนไม่สามารถนับได้

ตารางที่ 16 แสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จำนวนโคโลนี / ครั้งที่	ความเข้มข้นของการทำให้เจือจาง				
	1:10	1:100	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	α	α	α	α	394
2	α	α	α	α	372
3	α	α	α	α	495
ค่าเฉลี่ย	α	α	α	α	420.33

α = จำนวนโคโลนีของเชื้อมีปริมาณมากจนไม่สามารถนับได้

ตารางที่ 17 แสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ *P. gingivalis* ต่อสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ เมื่อนำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จำนวนโคโลนี / ครั้งที่	ความเข้มข้นของการทำให้เจือจาง				
	1:10	1:100	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	α	α	450	37	5
2	α	α	374	46	3
3	α	α	853	49	3
ค่าเฉลี่ย	α	α	559	44	3.66

α = จำนวนโคโลนีของเชื้อมีปริมาณมากจนไม่สามารถนับได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัวที่เวลา 0 ถึง 14 วัน

เวลา	ความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์อิ่มตัว			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	12.54	12.52	12.57	12.54
0.5 ชม.	12.52	12.52	12.55	12.53
1 ชม.	12.54	12.50	12.54	12.53
3 ชม.	12.56	12.54	12.50	12.53
6 ชม.	12.54	12.52	12.52	12.53
12 ชม.	12.55	12.54	12.54	12.54
1 วัน	12.55	12.51	12.53	12.53
2 วัน	12.52	12.50	12.42	12.48
3 วัน	12.43	12.48	12.40	12.44
4 วัน	12.40	12.42	12.39	12.40
5 วัน	12.32	12.40	12.30	12.34
6 วัน	12.29	12.25	12.29	12.28
7 วัน	12.19	12.21	12.19	12.20
8 วัน	11.05	11.09	12.03	11.39
9วัน	9.02	9.98	11.08	9.73
10 วัน	9.00	9.08	9.08	9.05
11 วัน	9.01	9.03	8.86	8.97
12 วัน	8.87	8.75	9.84	9.15
13 วัน	8.82	8.52	8.41	8.58
14 วัน	8.38	8.35	8.35	8.36

ตารางที่ 19 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *A. viscosus* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S.mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *A. viscosus*ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของยาแล้ว (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. mitis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของยาแล้ว (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 26 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. faecalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของยาแล้ว (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 27 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของยาแล้ว (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 28 แสดงผลการฆ่าเชื้อของสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *P. gingivalis* ปริมาณ 10^3 โคโลนี ที่ทำการหยุดปฏิกิริยาของยาแล้ว (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

ครั้งที่ 1

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 2

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

ครั้งที่ 3

เวลา	กลุ่มทดลอง												กลุ่มควบคุมบวก	กลุ่มควบคุมลบ
	ระดับความเป็นกรด-ด่าง												น้ำดี-ไอออนไนซ์	$Ca(OH)_2$ กรด-ด่าง 12.50 (ไม่ได้เติมเชื้อ)
	12.50	12.00	11.50	11.00	10.50	10.00	9.50	9.00	8.50	8.00	7.50	7.00		
0.5 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 ชม.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6 ชม.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
12 ชม.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
7 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
14 วัน	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

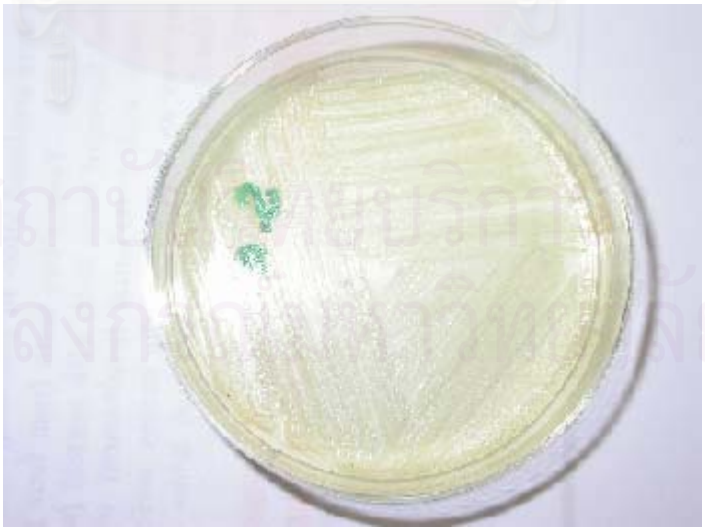
+ คือมีการเจริญของเชื้อ, - คือไม่มีการเจริญของเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 8 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Actinomyces viscosus*

รูปที่ 9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Streptococcus mitis*

รูปที่ 10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Enterococcus faecalis*



รูปที่ 11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Porphyromonas gingivalis*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกิตติยา สัจจะปกาสิต เกิดวันที่ 1 สิงหาคม 2517 ที่เขตพญาไท จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543 ได้รับการบรรจุในตำแหน่งพนักงานสายวิชาการ (อาจารย์) ณ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในปี พ.ศ. 2543 และในปี พ.ศ. 2544 ได้รับการอนุมัติให้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ณ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย