รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนสำหรับล้างคลองรากฟัน

Developing formulation of Non-chlorinated Smell Hypochlorite Solution for Root Canal Irrigation

โดย

ศาสตราจารย์ ทพญ.ละอองทอง วัชราภัย

รองศาสตราจารย์ ภญ.วนิดา แสงอลังการ

รองศาสตราจารย์ ดร.รัชชพิน เหล่าวานิช ศรีสัจจะลักษณ์

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยรังสิต

2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนสำหรับล้างคลองรากฟัน

Developing formulation of Non-chlorinated Smell Hypochlorite Solution for Root Canal Irrigation

โดย

ศาสตราจารย์ ทพญ.ละอองทอง วัชราภัย

รองศาสตราจารย์ ภญ.วนิดา แสงอลังการ

รองศาสตราจารย์ ดร. รัชชพิน เหล่าวานิช ศรีสัจจะลักษณ์

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยรังสิต

2556

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนสำหรับล้างคลองรากฟัน**

ผู้วิจัย ศาสตราจารย์ ทพญ.ละอองทอง วัชราภัย ทบ, ป.ชั้นสูงวิทยาเอ็นโดดอนต์

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

รองศาสตราจารย์ ภญ.วนิดา แสงอลังการ ภบ., ภม. (เภสัชวิทยา)

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

รองศาสตราจารย์ ดร. รัชชพิน เหล่าวานิช ศรีสัจจะลักษณ์ วท.บ (เทคนิคการแพทย์), วท.ม (จุลชีววิทยา), ปริญญาเอก (Microbiology and Immunology)

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ปีที่พิมพ์ พ.ศ.2558 สถานที่พิมพ์-

แหล่งที่เก็บรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

จำนวนหน้างานวิจัย.....64.....หน้า

คำสำคัญ น้ำยาล้างคลองรากฟัน ปราศจากกลิ่นคลอรีน ไฮโปคลอไรท์

ลิขสิทธิ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทคัดย่อ

การพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อพัฒนาสูตรน้ำยาที่เป็นสารประกอบคลอรีนให้ปราศจากกลิ่นคลอรีน

<u>วัตถุประสงค์</u> พัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนแล้ว ประเมินสมบัติ การต้านแบคทีเรีย สมบัติการละลายเนื้อเยื่อใน และสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง โดยเปรียบเทียบกับสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด

<u>วิธีการศึกษา</u> งานวิจัยเพื่อพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ ใช้ Trichloroisocyanuric acid (TCA) เป็นสารตั้งต้นโดยพบว่า สูตร TCA 3.5% + 1/7 Buffer-1 และ TCA 3.5% + 1/6 Buffer-1

ผ่านการทดสอบความคงสภาพระยะสั้น โดยความเข้มของไฮโปคลอไรท์อิออน และค่า pH ไม่เปลี่ยนแปลงภายหลังจากเก็บน้ำยาไว้นาน 4 สัปดาห์ จึงนำน้ำยาล้างคลองรากฟันที่พัฒนา 2 สูตร มาเปรียบเทียบกับน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด ตามสมบัติที่กล่าวในวัตถุประสงค์ ผลการต้านแบคทีเรียพบว่าทั้ง 2 สูตรที่พัฒนาขึ้นใหม่มีความสามารถฆ่า *E.faecalis* ได้ร้อยละ100 เมื่อแบคทีเรียสัมผัสน้ำยา เป็นเวลา 30 วินาที 1, 10 และ30 นาที โดยผลไม่แตกต่างจาก สูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด สำหรับผลของการละลายเนื้อเยื่อในวัวเป็นเวลา 20 นาที พบว่า ร้อยละของเนื้อเยื่อที่ละลายภายหลังสัมผัสน้ำยาไฮโปคลอไรท์ทั้ง 2 สูตรและน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด ให้ผลไม่ต่างกัน ($p>0.05$) แต่จะต่างจากกลุ่มควบคุมซึ่งแช่ในน้ำเกลือ ($p=0.000$) ส่วนผลการประเมินความเป็นพิษต่อ เซลล์เพาะเลี้ยง แอลนายท์ทูนายท์ ตามหลักเกณฑ์ การประเมินสมบัติทางชีวภาพไอเอสโอ 7405:2008 พบว่า น้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ทั้ง 2 สูตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่ต่างจากน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด ($p>0.005$)

<u>สรุป</u> สูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ที่พัฒนาขึ้นใหม่ให้ปราศจากกลิ่นคลอรีน 2 สูตร คือ TCA 3.5 **% +** 1/7 Buffer-1 และTCA3.5**% +** 1/6 Buffer-1 มีสมบัติต้านแบคทีเรีย สมบัติละลายเนื้อเยื่อใน และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่ต่างจากน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปทดลองใช้ในทางคลินิกต่อไป

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Title: Developing formulation of Non-chlorinated Smell Hypochlorite Solution for Root Canal Irrigation

Researcher: Prof. La-ongthong Vajrabhaya DDS, Grad Diploma in Clinical Science
Faculty of Dental Medicine, Rangsit University
Assoc. Prof. Vanida Sangalangkan, B.Sc. in Pharm., M.Sc. in Pharm.
Faculty of Dentistry, Mahidol University
Assoc. Prof. Dr. Ratchapin Laovanitch Srisatjaluk, B.Sc. in Med. Tech., M.Sc. in Microbiology, PhD in Microbiology and Immunology
Faculty of Dentistry, Mahidol University

Year of Publication 2015 Publisher
Sources : Research Institute, Rangsit University No. of pages 64
Keywords: hypochlorite, non-chlorinated smell, root canal irrigant
Copyright: Rangsit University

Abstract

This is an *in vitro* study to develop the formulation of non-chlorinated smell hypochlorite solution for root canal irrigation

Objective: The aim was to formulae non-chlorinated smell hypochlorite solution for root canal irrigation. Its antibacterial effects the tissue dissolution and the cytotoxicity on cell culture were also assessed comparing with the commercial products of Sodium hypochlorite solution.

Methodology: Trichloroisocyanuric acid (TCA) was used as the source for producing hypochlorite ion in the solution. The results revealed that two formulae of TCA 3.5%+1/7 Buffer-1 and TCA 3.5%+1/6 Buffer-1 passed short-term of stability test. The hypochlorite ion and pH were stable in short incubation period of four weeks. The properties as mentioned in the objective of the two new formulated root canal irrigants were assessed comparing with the sodium hypochlorite commercial products. The results of antibacterial effect test of the two new formulated solutions on *E. faecalis* after contacting time of 30sec, 1, 10 and 30 min revealed no difference from the commercial products. While the dissolution property on bovine pulpal tissue after 20min of direct contact, the two new formulated solutions also showed not difference from the commercial products ($p>0.05$). The biocompatibility study on the cell culture according to ISO 7405: 2008 showed that the toxicity of the both formulae were not different from the commercial products ($p>0.05$).

Conclusion: According to the properties of the antibacterial effect, the pulp tissue dissolution and the cytotoxicity test, the two new non-chlorinated smell hypochlorite solutions; TCA3.5%+1/7 Buffer-1 and TCA3.5%+1/6 Buffer-1showed no significant difference from the commercial products. The clinical use should be studied in further studies.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนสำหรับล้างคลองรากฟัน” นี้ดำเนินการวิจัยในรูปแบบสหสาขาวิชาทางทันตกรรมได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยรังสิต ตามหมายเลขการรับรอง RSEC 01/2557

คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณบุคลากร ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่สนับสนุนการใช้สถานที่และเครื่องมือวิจัยทั้งจาก ภาควิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก และสำนักงานการวิจัย

สุดท้ายนี้ต้องขอขอบคุณผู้บริหาร อธิการบดี รองอธิการบดีฝ่ายวิจัย และคณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่สนับสนุนให้ได้รับทุนวิจัยเพื่อดำเนินโครงการวิจัยได้สำเร็จตามเป้าหมายคณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลงานวิจัยที่เกิดขึ้นจากโครงการวิจัยนี้จะเกิดประโยชน์ต่อสังคมและสามารถนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญ หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญ ตาราง จ

สารบัญรูปภาพ ฉ

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 1

ขอบเขตของการวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยและการเก็บรวบรวมข้อมูล 5

การวิเคราะห์ข้อมูล 8

บทที่4 ผลการวิจัย 9

บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผล

สรุปผลการวิจัย 34

อภิปรายผลการวิจัย 35

บรรณานุกรม 36

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญ หน้า

ภาคผนวก 37

ประวัติผู้วิจัย 38

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญตาราง หน้า

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจสมบัติน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้ในปัจจุบัน 9

ตารางที่ 2 ผลการปรับ pH น้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันให้เป็นกรด 10

ตารางที่ 3 สูตรรอบที่ 1 จับ Cl_2 ด้วย Sulphamic acid (Buffer-1) 11

ตารางที่ 4 สูตรรอบที่ 2 ปรับ pH ลดความเป็นกรดด้วย Sodium tripolyphosphate (Na5P3O10) (Buffer-2) 12

ตารางที่ 5 สูตรรอบที่ 3 นำสูตร 9, 10 มาพัฒนาต่อโดยการปรับ pH ให้เป็นด่างด้วย NaOH 13

ตารางที่ 6 สูตรรอบที่ 4: การปรับลด oxone เพื่อลดความเป็นกรด โดยไม่ใช้ NaOH 14

ตารางที่ 7 สูตรรอบที่ 1 TCA ผสม NaOH เมื่อ pH สูงขึ้น ค่า % OCl^- ไม่คงสภาพเมื่อเก็บไว้ 15

ตารางที่ 8 สูตรรอบที่ 2: TCA 3.9% (1.72% OCl-) เปรียบเทียบผลการละลายเนื้อเยื่อกับ MU, CU 15

ตารางที่ 9 สูตรรอบที่ 3 เปรียบเทียบสูตรที่ปรับสัดส่วน TCA, Buffer-1, Buffer-2 และ NaOH 17

ตารางที่ 10 สูตรรอบที่ 4 TCA จากสูตรที่ 14 นำมาพัฒนาโดยปรับ pH >13 ด้วย NaOH 17

ตารางที่ 11 สูตรรอบที่ 5 TCA 4 18

ตารางที่ 12 สูตรรอบที่ 6 TCA 5 - TCA 8 เพิ่ม adjuvant ศึกษาความคงสภาพ 19

ตารางที่ 13 สูตรรอบที่ 7 เลือก TCA 8 มาพัฒนาสูตรและศึกษาความคงสภาพ 19

ตารางที่ 14 สูตรรอบที่ 8 พัฒนาสูตร TCA 2 และ TCA 8 ศึกษาความคงสภาพระยะเวลา1เดือน 20

ตารางที่ 15 สูตรรอบที่ 9 ศึกษาผลของ Buffer-1 ต่อการละลายเนื้อเยื่อใน 22

ตารางที่ 16 น้ำยาล้างสูตรต่างๆที่เตรียมมาจากน้ำยา NaOCl นำมาประเมินประสิทธิภาพในการฆ่า *E.faecalis* ด้วยวิธี agar diffusion 26

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญตาราง หน้า

ตารางที่ 17 น้ำยาล้างสูตรต่างๆที่นำมาประเมินประสิทธิภาพในการฆ่า *E.faecalis* โดยวิธี direct contract 28

ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของน้ำยาสูตรต่างๆในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เวลา 30 วินาที ถึง 30 นาที 29

ตารางที่ 19 แสดงการวิเคราะห์สถิติการละลายเนื้อเยื่อในวัวของน้ำยาสูตรต่างๆ 32

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญรูปภาพ หน้า

รูปที่ 1 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ปริมาณ NaOCl ที่ลดลงภายในเวลา 6 เดือนหลังการเปิดขวดใช้งาน 10

รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างผลการทดลองละลายเนื้อเยื่อ จากสูตร A (MU lot 1) 16

รูปที่ 3 แสดงค่า pH ของสูตรต่างๆที่เก็บไว้นาน 4 สัปดาห์ 20

รูปที่ 4 ปริมาณไฮโปคลอไรท์อิออน (OCl^-) ของสูตรต่างๆที่เก็บไว้นาน 4 สัปดาห์ 21

รูปที่ 5 แสดงผลการละลายเนื้อเยื่อในจากฟันวัวในเวลานาน 1 ชั่วโมง 21

รูปที่ 6 สูตร1 และสูตร 2 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา 23

รูปที่ 7 สูตร 3 และสูตร 4 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา 24

รูปที่ 8 สูตร 5 และสูตร 6 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา 25

รูปที่ 9 ตัวอย่างผลการฆ่าเชื้อ E. faecalis ของสูตร A-G ด้วยวิธี agar diffusion 27

รูปที่ 10 แสดง zone of inhibition ของสูตร 3.5 % TCA เปรียบเทียบกับสูตรต่างๆ 27

รูปที่ 11 แสดงผลทางจุลชีววิทยาของน้ำยาสูตรต่างๆที่ใช้ทดสอบ ในเวลา 30 วินาที 29

รูปที่ 12 แสดงไม่มีเชื้อแบคทีเรียขึ้นบน BHI agar ภายหลังแบคทีเรียสัมผัสน้ำยาสูตรต่างๆตั้งแต่ 30 วินาที-30 นาที ยกเว้นกลุ่ม NSS 30

รูปที่ 13 เปอร์เซ็นต์ Tissue Loss ของน้ำยาสูตรต่างๆในเวลา 20 นาที 32

รูปที่ 14 ร้อยละของเซลล์ที่เหลือภายหลังสัมผัสน้ำยาล้างคลองรากฟัน 5 สูตรที่ความเข้มข้นต่างๆ negative และ positive control 33

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การกำจัดเนื้อเยื่อที่อักเสบหรือตายรวมทั้งแบคทีเรียที่เป็นต้นเหตุของการติดเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญในงานรักษาคลองรากฟัน หลักการคือ กำจัดแบคทีเรียและเนื้อเยื่อใน (pulpal tissue) ออกให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ จากนั้นจึงอุดภายในคลองรากฟันให้สมบูรณ์ด้วยวัสดุอุดคลองรากฟัน (กัตตาเปอร์ชา) ตั้งแต่ทางเปิดเข้าสู่คลองรากฟันจนถึงรูเปิดปลายราก เพื่อไม่ให้แบคทีเรียที่อาจหลงเหลือภายในคลองรากออกไปทำให้เกิดพยาธิสภาพที่เนื้อเยื่อบริเวณปลายราก ซึ่งหลักการกำจัดการติดเชื้อในคลองรากฟันประกอบด้วย การใช้เครื่องมือขยายคลองรากฟัน (Hand file or Rotary file) ร่วมกับน้ำยาล้างคลองรากฟัน โดยเครื่องมือจะขูดหรือตะไบพวกเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ เนื้อเยื่อใน (pulpal tissue) รวมทั้งแบคทีเรียตามผนังคลองรากฟันออกมา โดยจะต้องมีน้ำยาล้างคลองรากฟันช่วยในการชะล้างหรือละลายพวกเนื้อเยื่อออกมาสู่ทางเปิดเข้าสู่คลองรากฟัน ดังนั้นน้ำยาล้างคลองรากฟันนอกจากจะช่วยชะล้างแล้วควรมีสมบัติในการกำจัดแบคทีเรียอีกทั้งละลายเนื้อเยื่อในด้วย ตลอดทั้งแทรกซึมเข้าไปในบริเวณซอกแคบๆของคลองรากซึ่งเครื่องมือขยายไม่สามารถผ่านเข้าไปได้ถึง[1-3]

ปัจจุบัน NaOCl (Sodium hypochlorite) เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ใช้อย่างกว้างขวางด้วยสมบัติสองประการ คือ สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีสมบัติช่วยละลายเนื้อเยื่อในได้ดี ความเข้มข้นของ NaOCl ที่นิยมใช้ในทางคลินิกตั้งแต่ 1% ถึง 6% แต่เนื่องจากน้ำยา NaOCl ที่ใช้ในปัจจุบันมีกลิ่นของน้ำยาซักผ้าขาว (Chlorox) ซึ่งเป็นกลิ่นของคลอรีน ทำให้เป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ในระหว่างการรักษาคลองรากของทั้งทันตแพทย์และผู้ป่วย ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟัน NaOCl ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน แต่ยังมีสมบัติในการกำจัดแบคทีเรียและละลายเนื้อเยื่อในได้ดี ไม่แตกต่างจากสูตรที่ใช้ในปัจจุบัน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. พัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟัน ไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน
2. ประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อที่พบในคลองรากฟันของสูตรน้ำยาที่พัฒนาใหม่
3. ประเมินประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อของสูตรน้ำยาที่พัฒนาใหม่
4. ประเมินความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง

ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนงานวิจัยมีดังนี้

งานวิจัยส่วนที่ 1. พัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน

- พัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์
- ศึกษาความคงสภาพระยะสั้น

งานวิจัยส่วนที่ 2. ประเมินประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสูตรที่พัฒนาใหม่ต่อการฆ่า *Enterococcus faecalis* ที่ดื้อต่อการรักษาโรคติดเชื้อในคลองรากฟัน

- หาค่า MBC ของสูตรที่พัฒนาขึ้นใหม่เปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีขายในท้องตลาด
- ประเมินผลของน้ำยาเมื่อสัมผัสแบคทีเรียโดยตรงที่เวลา 30 วินาที 1, 10, 30 นาที และดูผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อนาน 1 สัปดาห์

งานวิจัยส่วนที่ 3. ประเมินประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อใน (pulp tissue) ของสูตรที่พัฒนาใหม่

- ศึกษาการละลายเนื้อเยื่อในของฟันวัวของสูตรที่พัฒนาใหม่เปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่มีขายในท้องตลาด

งานวิจัยส่วนที่ 4. ประเมินความเป็นพิษด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเซลล์ของสูตรที่พัฒนาใหม่เปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีขายในท้องตลาดตาม วิธีมาตรฐาน ISO 7405:2008 Dentistry - Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรน้ำยาที่พัฒนาขึ้นโดยปราศจากกลิ่นคลอรีน
2. จดสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร
3. นำออกสู่เชิงพาณิชย์

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

NaOCl เป็นสารเคมีที่นำมาใช้ในงานรักษาคลองรากฟันเป็นเวลานานในรูปของของเหลว และเป็นที่รู้จักในสมบัติของการเป็นสารฟอกขาว การที่ NaOCl นำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันด้วยสมบัติสองประการ คือ มีฤทธิ์การทำลายแบคทีเรีย (bactericidal) และละลายเนื้อเยื่อใน[4] แต่ก็มีข้อด้อยคือ มีพิษถ้ามีการดันน้ำยาออกไปนอกคลองรากฟันไปสัมผัสกับเนื้อเยื่อบริเวณรอบปลายราก ดังนั้นขณะล้างคลองรากฟันต้องมีความระมัดระวังไม่ดันน้ำยาล้างออกไปนอกรากฟันทาง apical foramen อีกประการน้ำยาล้าง NaOCl จะละลายได้เฉพาะ organic tissue ไม่สามารถละลาย inorganic tissue ซึ่งได้แก่พวกเศษฟันที่เกิดจากการขยายเนื่องจากการทำความสะอาดคลองราก และสิ่งเหล่านี้จะประกอบกันเป็นชั้นที่เรียก smear layer ดังนั้นในการทำความสะอาดคลองรากจึงจำเป็นต้องมีน้ำยาล้างประเภทที่กำจัด inorganic tissue เหล่านี้ได้ ซึ่ง 17% EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid) เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันอีกชนิดที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในงาน endodontics[5] ร่วมกับ NaOCl โดยจะเกิดปฏิกิริยา Chelating กับ Ca^{+2} และ Mg^{+2} เป็นต้น ช่วยทำลายชั้นดังกล่าวและเปิดโอกาสให้ NaOCl สามารถเข้าไปทำลายแบคทีเรียและเศษเนื้อเยื่อในได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามกลิ่นของคลอรีนเป็นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในคลินิก ซึ่งปลดปล่อยออกมาจาก hypochlorous acid ภายหลัง NaOCl ทำปฏิกิริยากับ H_2O ตามสมการ

$$NaOCl + H_2O^- \longleftrightarrow NaOH + HOCl \longleftrightarrow Na^+ + OH^- + H^+ + OCl^-$$

โดยคลอรีนที่เกิดขึ้นนี้เป็น strong oxidant มีฤทธิ์การทำลายแบคทีเรีย โดยจะไปทำปฏิกิริยากับ amino acid เกิดเป็น chloramines ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ cell metabolism นอกจากนี้ NaOCl ยังไปทำลายพวก organic tissue เกิดเป็น fatty acid (soap) และ glycerol จะเห็นได้ว่าคลอรีนเป็นสารสำคัญที่ทำให้ NaOCl มีสมบัติที่พึงประสงค์ในการใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน ดังนั้นในการที่จะไม่ให้มีกลิ่นคลอรีนระเหยออกมาก็คงต้องเลือกหาสารใส่ลงในส่วนผสมของ NaOCl และให้สารที่ใส่ลงไปนี้จับกับคลอรีนและละลายอยู่ในสารละลายไม่ระเหยออกมา แต่ขณะเดียวกัน NaOCl สูตรที่พัฒนานี้ก็ยังต้องคงสมบัติของ การทำลายแบคทีเรีย และละลายเนื้อเยื่อไม่แตกต่างจากสูตร NaOCl เดิมที่ใช้เป็นปกติในปัจจุบัน

จากการศึกษาของ Bryström และ Sundqvist[6-8] เกี่ยวกับการลดจำนวนการติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันซึ่งเป็น classic article ในงาน endodontics โดยเริ่มตั้งแต่ปี คศ.1981 Bryström และ Sundqvist พบว่าการขยายคลองรากฟันด้วยเครื่องมือขยายเพียงอย่างเดียวจะลดจำนวนแบคทีเรียในคลองรากได้ 50% แต่ถ้ามี

การใช้ของเหลวร่วมในการทำความสะอาดคลองรากเปรียบเทียบระหว่าง normal saline solution (NSS) และ NaOCl พบว่าจำนวนคลองรากฟันที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่ล้างด้วย NaOCl มากกว่ากลุ่มที่ล้างด้วย NSS และประสิทธภาพในการล้างจะเพิ่มสูงขึ้น ถ้ามีการนำ EDTA เข้ามาล้างร่วมเพื่อช่วยกำจัด smear layer ซึ่งจะช่วยให้ NaOCl เข้าไปทำลายแบคทีเรียและเนื้อเยื่อในได้ดีขึ้น

ดังนั้นภายหลังพัฒนาสูตรน้ำยาล้าง NaOCl ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนแล้วจะต้องนำมาประเมินประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียโดยวิธี Direct contact experiment ตามการศึกษาของ Gomes และคณะ[9] ซึ่งศึกษา NaOCl ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยให้น้ำยาล้างคลองรากฟันสัมผัสกับเชื้อ *Enterococcus faecalis* ณ เวลาต่างๆ กันเปรียบเทียบกับ Chlorhexidine และน้ำเกลือซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จากการศึกษาพบว่า 2.5% และ 5.25% NaOCl ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้อย่างกว้างขวางในงานรักษาคลองรากฟันมีผลในการทำลายแบคทีเรียได้ร้อยละ 100ในเวลา 10 min และน้อยกว่า 30 sec ตามลำดับ

สมบัติการละลายเนื้อเยื่อในเป็นสมบัติเด่นอีกประการที่ NaOCl ถูกเลือกมาเป็นน้ำล้างคลองรากฟัน มีหลายการศึกษา[10-12] ที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ NaOCl ที่ความเข้มข้นต่างๆในการละลายเนื้อเยื่อ โดยใช้เนื้อเยื่อในของวัว หมู เป็นต้น ประสิทธิภาพของ NaOCl ในการละลายเนื้อเยื่อขึ้นกับความเข้มข้น ปริมาณและเวลาที่ NaOCl สัมผัสกับเนื้อเยื่อ ตลอดทั้งอุณหภูมิ ความเข้มข้นสูง เช่น 5% และ 3% NaOCl จะละลายเนื้อเยื่อในของวัวได้ดีกว่า 1% NaOCl ในระยะเวลาและน้ำหนักของเนื้อเยื่อในวัวที่เท่ากัน 0.5% NaOCl สามารถละลายเนื้อเยื่อได้ 90% Abou-Rass และ Oglesby[11] พบว่าความเข้มข้นสูงและการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำยาล้าง NaOCl จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลาย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยและการเก็บรวบรวมข้อมูล

วิธีดำเนินการวิจัย

ส่วนที่ 1 การพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายไฮโปคลอไรท์ ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน

1.1 สำรวจ สารเคมี ที่จะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการนำมาผลิตสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายไฮโปคลอไรท์ โดยวิเคราะห์หาปริมาณแอคทีฟคลอรีน (chlorine ions) ด้วยวิธีไทเทรต (Determination of Sodium Hypochlorite in Household Bleach, Minneapolis Community and Technical College. Principles of Chemistry II, C1152 : v.11.11) เปรียบเทียบกับปริมาณแอคทีฟคลอรีน ที่มีอยู่ในน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ก่อนนำมาทดลองผลิตสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ต้องการพัฒนาสูตรใหม่

1.2 สารเคมีเตรียมสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ ที่คัดเลือกมาจะนำมาทดลองเตรียมเป็นสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟัน แล้วเติมสาร adjuvants และ/หรือ buffers ที่มีสมบัติจับคลอรีนแก๊ส (available chlorine gas) ที่ระเหยไปในบรรยากาศ ให้มาละลายในน้ำยาแทน โดยจะทดลอง 3 สูตร

1.3 ทดลองความคงสภาพระยะสั้น โดยเก็บสูตรที่พัฒนาใหม่นี้เป็นระยะเวลา 1 เดือน แล้วทดลองหาสารออกฤทธิ์คงเหลือ โดยศึกษาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่

- ปัจจัยจากสูตร
- ปัจจัยจากรูปแบบยาเตรียม
- ปัจจัยจากภาชนะบรรจุ

1.4 นำข้อมูลที่ศึกษาผลกระทบจากปัจจัยต่างๆมาพัฒนาปรับปรุงสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟัน

1.5 คัดเลือกสูตรที่มีความคงสภาพ โดยต้องมีปริมาณแอคทีฟคลอรีนในสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย ละลายเนื้อเยื่อใน และความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity test) ไม่แตกต่างจากน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

ส่วนที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย

2.1 <u>หาค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ดูผลการฆ่าเชื้อ *E. faecalis*</u>

<u>วิธีทำ:</u> ใช้ broth micro-dilution technique ดังนี้

- ทดสอบผลการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ของสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ โดยวิธี broth micro-dilution ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อในแต่ละสูตร

- การเตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบ นำโคโลนีเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว brain heart infusion broth (BD, USA) อบที่ 37ºC ในบรรยากาศที่มี 5% CO_2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาปรับความขุ่น

โดยการวัดค่า Optical density (OD) ที่ 600 nm ให้ได้ 0.1 ซึ่งจะได้ความหนาแน่นของเชื้อประมาณ 1-5 x 10^8 cfu/ml จากนั้นเจือจางเชื้อ 1:1000 เท่า

- ทำการทดสอบในไมโครไตเตอร์เพลทชนิด 96 หลุม (96-well polystyrene round-bottom microtiter plate, Corning, USA) โดยนำสารละลายไฮโปคลอไรท์แต่ละสูตรที่เตรียมไว้มาทำ two-fold dilution ให้มีความเข้มข้นลดลงตั้งแต่ 2-2^9 เท่า หยดสารทดสอบแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 µl ลงในหลุมโดยเรียงจากความเข้มข้นมากไปน้อย ทำความเข้มข้นละ 3 หลุม จากนั้นหยดเชื้อที่ได้เตรียมไว้ปริมาตร 100 µl ลงในหลุมที่ได้ใส่สารทดสอบข้างต้น และมีหลุมกลุ่มควบคุมบวก (positive control) คือเป็นหลุมที่ไม่ใส่สาร ส่วนหลุมกลุ่มควบคุมลบ (negative control) เป็นหลุมที่ไม่มีเชื้อ อบที่ 37ºC ในบรรยากาศที่มี 5% CO_2 นาน 24 ชั่วโมง

- หาค่า MBC โดยดูดสารละลายปริมาตร 20 µl จากหลุมทดสอบ มาเพาะเลี้ยงลงบน บน BHI agar อบที่ 37ºC ในบรรยากาศที่มี 5% CO_2 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูการเจริญเติบโตของเชื้อบน agar บันทึกค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อได้ นำค่ามาเปรียบเทียบกันประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของแต่ละสูตร กับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

2.2 การประเมินประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย โดยให้น้ำยาสัมผัสเชื้อโดยตรงตามระยะเวลาที่ต่างกัน

2.1 นำเชื้อ *E. faecalis* ซึ่งเลี้ยงบน Brain Heart Infusion มาละลายใน 0.9% Nacl solusion แล้วปรับให้ cell suspension มีความขุ่นตาม 0.5 McFarland scale นั่นคือ มีแบคทีเรีย 1.5X10^8 CFU/ml

2.2 นำ Test tube มาใส่ตัวอย่างน้ำยา NaOCl จำนวน 1ml/หลอด โดยจะทดสอบ NaOCl สูตรที่มีในท้องตลาด และสูตรที่พัฒนาใหม่ ทำ 1 หลอด/ช่วงเวลา/สูตร

จากนั้นนำ bacterial suspension ในข้อ 2.1 จำนวน 2 ml มาใส่ในแต่ละหลอด และ Vortex ผสมเป็นเวลา 10 sec. จับเวลาให้ bacteria สัมผัสกับน้ำยา NaOCl ที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น เป็นวลา 30 sec, 1, 10, และ 30 min ตามลำดับ เมื่อครบเวลาดูด suspension มา 0.5 ml มาใส่ tube จำนวน 3 tube/ช่วงเวลา/สูตร ซึ่งแต่ละ tube มี 1 ml ของ BHI และ neutralizer (0.6%Sodium Thiosulphate) แล้วนำไป incubate ต่ออีก 7 วันเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มี bacteria หลงเหลืออยู่ พร้อมทั้งนำ suspension 20 ul ของแต่ละหลอดมาเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารวุ้น โดยเก็บในตู้อบ 37°C เป็นเวลา 3 วัน เพื่อประเมินว่ามีแบคทีเรียขึ้นหรือไม่ สำหรับกลุ่มควบคุมใช้ sterile saline แทนน้ำยา NaOCl

ในการศึกษาจะทดสอบตามข้อ 2.2 โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง ก็จะได้เป็นเวลาที่แบคทีเรียสัมผัสกับน้ำยา NaOCl และมีผลในการทำลายแบคทีเรียได้ 100%

ส่วนที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อใน

3.1 นำ bovine mandibular tooth มาตัดในแนว mesio-distal direction ด้วย diamond bur และแบ่งเป็น 2 ซีก จากนั้นนำ pulp tissue ออกมาจากฟันวัว แล้วนำมาแบ่งเป็นชิ้น ซึ่งมีปริมาตรเท่ากัน

(0.1±0.05gm) จำนวน 10 ชิ้น/ความเข้มข้นของน้ำยา พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักของเนื้อเยื่อในก่อนแช่น้ำยาล้างและจดบันทึก

3.2 นำชิ้นเนื้อเยื่อในข้อ 3.1 มาแช่ใน NaOCl สูตรที่พัฒนาและสูตรดั้งเดิมที่ใช้อยู่ โดยแช่ 1 ชิ้นเนื้อเยื่อใน/ถ้วย/น้ำยาล้าง เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำชิ้นเนื้อเยื่อในที่เหลือมาซับแห้ง และชั่งน้ำหนักที่เหลือจากการละลายในน้ำยาล้าง จดบันทึก

จากการศึกษาในด้านการละลายของน้ำยาล้างไฮโปคลอไรท์ ที่พัฒนาใหม่ก็จะทำให้ทราบว่าสูตรที่พัฒนามีประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อในต่างจากน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ขายในท้องตลาดหรือไม่

ส่วนที่ 4. การประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่พัฒนาใหม่และสูตรโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

ใช้วิธีมาตรฐานตาม ISO 7405:2008 Dentistry - Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry [13] โดยนำเซลล์แอลเก้าสองเก้า (L929 cell line) มาย่อยด้วย 0.25% Trypsin versene แล้วปรับเซลล์ให้ได้ 1 x10^5 cell/ml นำมาใส่ใน 96 well plate จำนวน 1x10^4 cell/well นำเพลทมาใส่ในตู้อบควบคุมอัตราการไหลของ 5 %CO_2 ที่อุณหภูมิ 37°C ความชื้นสัมพัทธ์ 100% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้เซลล์ลักษณะชั้นเดียว ครบเวลาดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกล้างด้วย PBS(1X)

นำสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ทุกสูตรมาเจือจางเป็นความเข้มข้น 20%, 2%, 0.2% และ 0.02% ตามลำดับ ส่วน positive control เป็น polyvinyl chloride (PVC, Hatano Research Institute, Food Land Drug Safety Center, Kanawaga, Japan) ขนาด 3 cm^2 แช่ใน 2 ml ของ DMEM media โดยนำไปเข้าตู้อบ 37°C 5%CO_2 24h ก่อนทดสอบ

สำหรับ negative control เป็น Thermanox plastic cover slips (NUNC™, Naperville, IL, USA) ขนาด 6 cm^2 แช่ใน 2 ml ของ media นำไปเข้าตู้อบก่อนทดสอบเช่นเดียวกับ positive control ดูดน้ำยาทดสอบทั้ง 5 สูตร , 4 ความเข้มข้น/สูตรตามความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น positive และ negative control จำนวน 100 ul ใส่ใน 96 well plate 8หลุม/สารทดสอบ พร้อมทั้งนำไปเข้าตู้อบดังกล่าวข้างต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงดูดสารทดสอบออก ล้างด้วย PBS(1X) และ ใส่ 0.05% MTT ในอาหารเลี้ยงเซลล์ จำนวนหลุมละ 50 ไมโครลิตร นำเข้าตู้อบควบคุมอัตราการไหลของ 5 %CO_2 ที่อุณหภูมิ 37°C ความชื้นสัมพัทธ์ 100% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำเพลทออกจากตู้อบ นำมาสังเกตเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ จากนั้นล้างแต่ละหลุมด้วย PBS(1X) จำนวน 1 ครั้ง ใส่ Isopropanol หลุมละ 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายฟอร์มาแซนออกมาจากเซลล์ ควรห่อเพลทด้วยอลูมิเนียมฟอยด์เพื่อป้องกันแสงทำปฏิบัติกิริยากับสารในเพลท จากนั้นนำเพลทมาตั้งบนเครื่องเขย่าสารเพื่อช่วยเร่งการละลายเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดหาค่าความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอีไรซาไมโครเพลทรีดเดอร์ นำค่าความเข้มแสงมาคำนวณค่าร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิต (%cell viability) โดยใช้สูตร

ร้อยละของเซลล์มีชีวิต = $100 \times OD_{570e} / OD_{570b}$ (e = experiment, b = blank)

ในการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ จะทำตามการทดสอบข้างต้น ซ้ำ 3 ครั้ง

ส่วนที่ 5 การประเมินกลิ่นคลอรีน

ประเมินกลิ่นคลอรีนของน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ใช้ในปัจจุบัน คือ CU และ MU ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของคณะทันตแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย และมหาวิทยาลัยมหิดล ตามลำดับ ด้วยวิธีดมกลิ่นโดยเจ้าหน้าที่ 2 คน

การวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยส่วนที่ 1 การพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟัน สารละลายไฮโปคลอไรด์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนภายหลังได้สูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรด์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนแล้ว นำมาศึกษาความคงสภาพเป็นระยะเวลา 1 เดือน ซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดในบทที่ 4 ผลการวิจัยต่อไป

งานวิจัยส่วนที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย โดยวิธี direct contact ของเชื้อ *E.faecalis* เมื่อสัมผัสกับน้ำยาสูตรต่างๆที่ระยะเวลา 30 sec., 1, 10 และ 30 min สามารถทำลายแบคทีเรียได้ 100% หรือไม่

งานวิจัยส่วนที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพในการทำลายเนื้อเยื่อใน นำค่าเนื้อเยื่อในของฟันวัวก่อนแช่ในน้ำยาและภายหลังแช่ในน้ำยาสูตรต่างๆเป็นเวลา 20 นาที มาหา % loss จากสูตร

$$\frac{\text{น้ำหนักเนื้อเยื่อในก่อนแช่- น้ำหนักเนื้อเยื่อในหลังแช่}}{\text{น้ำหนักเนื้อเยื่อในก่อนแช่}} \times 100$$

หาค่าสถิติพื้นฐาน Mean±SD, %Tissue loss ของน้ำยาแต่ละสูตร และใช้สถิติ Kruskal Wallis Test เพื่อเปรียบเทียบค่าแฉลี่ย %Tissue loss ของน้ำยาสูตรต่างๆ จากนั้นใช้สถิติ Mann-Whitny U Test เปรียบเทียบรายคู่ของแต่ละสูตร

งานวิจัยส่วนที่ 4 การประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรที่พัฒนาเปรียบเทียบกับสูตรที่มีขายในท้องตลาด ใช้สถิติ Kruskal Wallis Test โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเซลล์ที่เหลือภายหลังสัมผัสน้ำยาสูตรต่างๆในแต่ละความเข้มข้น (20%, 2%, 0.2% และ 0.02%) positive และ negative control จากนั้นใช้สถิติ Mann-Whitny U Test เปรียบเทียบรายคู่ของน้ำยาสูตรต่างๆในแต่ละความเข้มข้น

บทที่ 4
ผลการวิจัย

งานวิจัยส่วนที่ 1: การพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์

ขั้นตอนที่ 1: ศึกษาสมบัติน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

ผลการสำรวจสมบัติของน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ดูตารางที่ 1 ซึ่งพบว่า

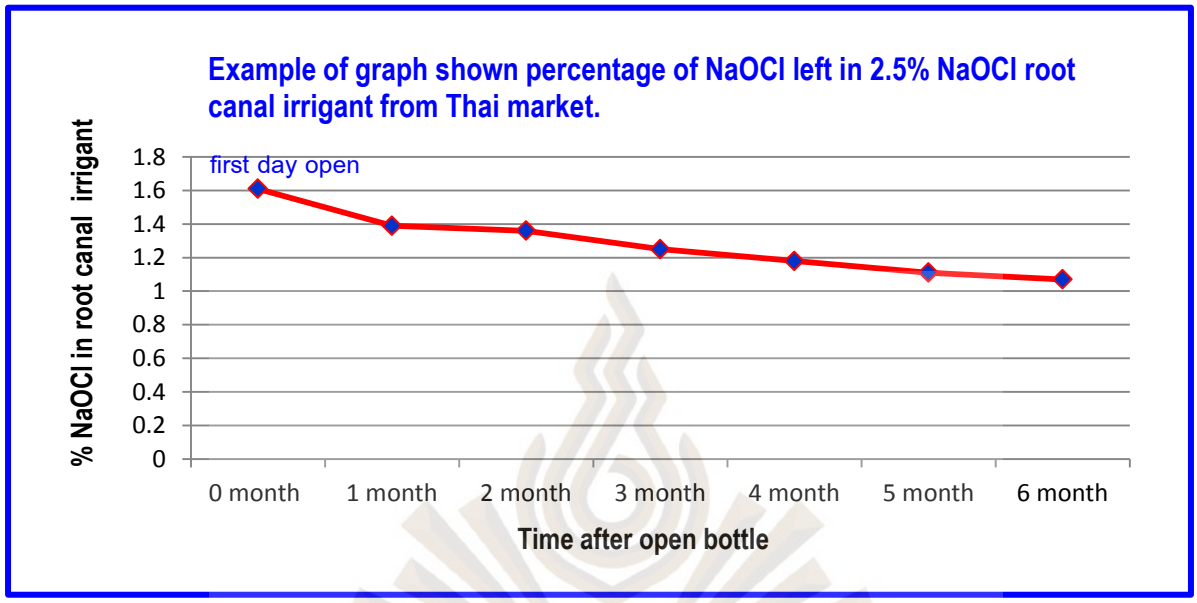
- สารละลายมีค่าความเป็นด่างสูง pH อยู่ระหว่าง 12.44–13.55 โดยค่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณ hypochlorite ion (OCl^-) ถ้าปริมาณ OCl^- สูง ค่า pH จะลดลง
- สารละลายมีความแตกต่างกันของปริมาณ OCl^- ที่ตรวจวิเคราะห์โดยไทเทรต มี lot variation ค่าความเข้มข้นโซเดียมไฮโปคลอไรท์อยู่ระหว่าง 0.5 – 3.5% นั่นแสดงว่าน้ำยาไม่คงสภาพ ปริมาณความเข้มข้นลดลงตามเวลาที่เก็บไว้ จึงมีความไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับ จำนวนครั้งของการเปิดใช้ อุณหภูมิห้อง อายุยา
- เวลาเปิดขวดจะมีกลิ่นคลอรีนแก๊ส รุนแรง การสูดดมเป็นเวลานานหรือหลายครั้ง จะทำให้เกิดการระคายเคืองทางเดินหายใจ

ตารางที่ 1: ผลการสำรวจสมบัติน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้ในปัจจุบัน

แหล่งผลิต	ความเข้มข้น	pH	ฆ่า *E. faecalis*	ละลายเนื้อเยื่อใน
คณะทันตแพทยศาสตร์ CU (จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย)	0.5-3.5% NaOCl (lot variations)	12.44–13.55	✓	✓ ความเข้มข้นสูงละลายได้ดีกว่า
คณะทันตแพทยศาสตร์ MU (มหาวิทยาลัยมหิดล)	0.5-3.5% NaOCl (lot variations)	12.44–13.55	✓	✓ ความเข้มข้นสูงละลายได้ดีกว่า
Virkon™	0.13% OCl^-	2	✓	X เนื้อเยื่อแข็งไม่ละลาย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รูปที่ 1: ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ปริมาณ NaOCl ที่ลดลงภายในเวลา 6 เดือนหลังการเปิดขวดใช้งาน



ศึกษาผลของ pH ต่อการออกฤทธิ์ที่สำคัญ 2 ประการ พบว่า

- pH ของสารละลาย กรด หรือ ด่าง ยังสามารถ ฆ่า *E. faecalis* ได้ดี
- pH ของสารละลายที่เป็นกรด จะทำให้เนื้อเยื่อไม่ละลายโดยจะแข็งตัวเป็นก้อน

ตารางที่ 2: ผลการปรับ pH น้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันให้เป็นกรด

แหล่งผลิต	ความเข้มข้น	pH (เดิม)	pH (กรด)	ผลการออกฤทธิ์
คณะทันตแพทยศาสตร์ CU (จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย)	0.5-3.5% NaOCl (vary with lot)	12.44 – 13.55	2 (ด้วย sulphamic acid)	✓ฆ่า *E. faecalis*
				X ละลายเนื้อเยื่อใน
คณะทันตแพทยศาสตร์ MU (มหาวิทยาลัยมหิดล)	0.5-3.5% NaOCl (vary with lot)	12.44 – 13.55	2 (ด้วย sulphamic acid)	✓ฆ่า *E. faecalis*
				X ละลายเนื้อเยื่อใน

สรุป: น้ำยา CU, MU ถ้าปรับ pH เป็นกรด (ด้วย sulphamic acid) จะทำให้เนื้อเยื่อไม่ละลาย

ขั้นตอนที่ 2: การพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์สำหรับล้างคลองรากฟัน

- การหาสารตั้งต้น NaOCl พบว่าไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย การนำสารเคมีมาผลิตสาร NaOCl ไม่สามารถทำได้เพราะจัดเป็นสารอันตราย การนำเข้าต้องขออนุญาตจากองค์การอาหารและยา กระทรวง

สาธารณสุข ซึ่งยุ่งยากและมีขั้นตอนที่จะเสียเวลามากทั้งจากการติดต่อซื้อจากต่างประเทศและการนำออกจากกรมศุลกากร แต่ประเทศไทยมีการนำเข้า 10% w/v NaOCl ซึ่งเมื่อทดลองสั่งซื้อจาก 2 บริษัทเอกชน พบว่าความเข้มข้นไม่ตรงตามฉลาก โดยมีปริมาณต่ำกว่า 10% w/v NaOCl การนำมาผลิตเป็นสูตรที่คงสภาพจึงไม่เหมาะสม เพราะมี lot variations มาก.

- สารประกอบที่มี chlorine อยู่ในโมเลกุล ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดและสามารถจัดซื้อจัดหาได้ได้แก่ sodium chloride (NaCl) และผงคลอรีนที่ใช้ในสระว่ายน้ำ

ขั้นตอนที่ 3: การพัฒนาสูตรจากสารตั้งต้น NaCl

- NaCl สามารถทำให้เกิด HOCl ได้โดยใช้ปฏิกิริยา oxidation ในที่นี้เลือก oxidizing agent คือ oxone [Potassium monopersulfate triple salt ($2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$)]

$$NaCl + H_2O \longrightarrow Na^+ + Cl^- \longrightarrow \text{oxone} \longrightarrow HOCl \longrightarrow H^+ + OCl^- \longrightarrow Cl_2$$

HOCl ไม่คงตัวเมื่ออยู่ในน้ำจะให้สารละลายมีฤทธิ์เป็นกรด และสลายตัวให้ gas chlorine มีกลิ่นฉุน

- ทดลองใช้ buffer-1 จับ Cl_2 ผลปรากฏตามตารางที่ 3 สรุปดังนี้

- สารละลาย pH < 1 เป็นกรดมาก
- ไม่มีกลิ่น Cl_2
- สามารถวิเคราะห์ปริมาณ OCl^- ได้
- สามารถฆ่า *E. faecalis* ได้ แต่ไม่ละลายเนื้อเยื่อและพบว่าทำให้เนื้อเยื่อแข็งตัว

ตารางที่ 3: สูตรรอบที่ 1 จับ Cl_2 ด้วย Sulphamic acid (Buffer-1)

รายการสารเคมี	ปริมาณสารเคมี (gm) / น้ำ 20 ml					
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	2.5% NaOCl
Oxone	5	5	5	2.5	3	-
NaCl	1	1	1	0.5	0.6	-
Buffer-1	1	2	3	1	1	-
Titration volume (ml)	11.4	10.5	10.0	6.3	7.3	-
* % OCl^-	2.85%	2.63%	2.5%	1.58%	1.82%	1.72%
กลิ่น gas Cl_2	X	X	X	X	X	✓

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 4: สูตรรอบที่ 2 ปรับ pH ลดความเป็นกรดด้วย Sodium tripolyphosphate ($Na_5P_3O_{10}$) (Buffer-2)

รายการสารเคมี	ปริมาณสารเคมี (กรัม) / น้ำ 20 ml					
	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8	สูตร 9	สูตร 10	2.5% NaOCl
Oxone	5	5	5	5.5	5	-
NaCl	1	1	1.5	1	1	-
Buffer-1	3	2	2	2	1	-
Buffer-2	5	3.5	3.5	3.5	2	-
Titration volume (ml	8	9	9	10	10	-
% OCl^-	2.00%	2.25%	2.25%	2.50%	2.50%	1.72%
pH	2.00	2.06	2.06	2.01	2.01	13.50

สูตรรอบที่ 2: pH ยังเป็นกรด ไม่ละลายเนื้อเยื่อและทำให้เนื้อเยื่อแข็งตัว

ทดลองนำสูตร 9, 10 มาพัฒนาต่อโดยปรับ pH เป็นด่างด้วย NaOH แล้วศึกษาความคงสภาพ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 5: สูตรรอบที่ 3 นำสูตร 9, 10 มาพัฒนาต่อโดยการปรับ pH ให้เป็นด่างด้วย NaOH

สารเคมี	ปริมาณสารเคมี (กรัม) / น้ำ 20 ml							
	สูตร 11	สูตร 12	สูตร 13	สูตร 14	สูตร 15	สูตร 16	สูตร 17	สูตร 18
Oxone	5	5	5	5	5	5	5	5
NaCl	1	1	1	1	1	1	1	1
Buffer-1	1	1	1	1	1	1	1	1
100 N NaOH	10 (ml)	8 (ml)	5 (ml)	4 (ml)	3 (ml)	2 (ml)	- (ml)	- (ml)
Buffer-2	-	-	-	-	-	-	-	2
Dist. water	10 (ml)	12 (ml)	15 (ml)	16 (ml)	17 (ml)	18 (ml)	20 (ml)	20 (ml)
Titration volume	0.6 (ml)	3.5 (ml)	7 (ml)	8 (ml)	9.5 (ml)	10.6 (ml)	11 (ml)	10 (ml)
% OCl^-	0.15%	0.8%	1.75%	2.00%	2.40%	2.65%	2.75%	2.5%
pH	12.53	7.00	1.67	1.33	1.19	1.15	0.69	2.03
Physical proporties	- ppt ทันที -เกิดก๊าซ Cl_2 แรงดัน -กลิ่นรุนแรง	-15 นาที เกิด ppt	-15 นาที เกิด ppt	-15 นาที เกิด ppt	- ใส	- ใส	- ใส	-15 นาที เกิด ppt
ทิ้งไว้ข้ามคืน (O/N)								
% OCl^-	-	0.725%	1.75%	1.125%	0.95%	0.25 %	0.125%	2.3%
pH	-	6.08	1.68	1.09	6.54	6.53	6.54	3.5
Physical proporties	ปฏิกริยารุนแรงมาก ไม่ได้เก็บตัวอย่างไว้	- ppt	- ppt	- ppt -เกิดก๊าซ Cl_2 -มีแรงดัน - กัดกร่อนฝาพลาสติก	- ppt -เกิดก๊าซ Cl_2 -มีแรงดัน - กัดกร่อนฝาพลาสติก	- ppt -เกิดก๊าซ Cl_2 -มีแรงดัน - กัดกร่อนฝาพลาสติก	- ppt -เกิดก๊าซ Cl_2 -มีแรงดัน - กัดกร่อนฝาพลาสติก	- ppt -เกิดก๊าซ Cl_2 -มีแรงดัน -กัดกร่อนฝาพลาสติก

* ppt หมายถึงตกตะกอน (precipitated)

* ผลการทดลองพบว่าทุกสูตรไม่คงสภาพ มี gas Cl_2 เกิดขึ้น กลิ่นรุนแรง โดยสูตรที่ใส่ NaOH มาก จะเกิดแรงดัน gas Cl_2 รวดเร็วและกลิ่นแรงมาก

* % OCl^- ที่ลดลง แสดงว่าความคงสภาพจะลดลง

ตารางที่ 6: สูตรรอบที่ 4: การปรับลด oxone เพื่อลดความเป็นกรด โดยไม่ใช้ NaOH

สูตร	**Day**	**Titration volume (ml)**	**% OCl-**	**pH**
สูตร 19	Day 0	7 ml	1.8	0.77
(3:1:1)*	Day 1	0.2 ml	0.515	-
	Day 5	0.1 ml	0.26	-
สูตร 20	Day 0	6.7 ml	1.725	1.34
(3:1:1:1)*	Day 1	6.5 ml	1.67	-
	Day 5	0.1 ml	0.26	-
สูตร 21**	Day 0	6.7 ml	1.72	2.36
(3:1:1:2)*	Day 1	6.5 ml	1.67	-
	Day 5	6.2 ml	1.60	-

* ใช้ส่วนผสมตามสัดส่วนดังนี้ Oxone : NaCl : Buffer-1 : Buffer-2

** สูตร 21 มีความคงตัวดี แต่ pH ยังมีความเป็นกรดสูง

สรุปผลการพัฒนาสูตรด้วยสารตั้งต้น NaCl ไม่ประสบผลสำเร็จเพราะไม่สามารถละลายเนื้อเยื่อได้

ขั้นตอนที่ 4: การพัฒนาสูตรจากสารตั้งต้นผงคลอรีนที่ใช้ในสระว่ายน้ำ (trichloroisocyanuric acid; TCA)

Trichloroisocyanurate → Dichloroisocyanurate

- TCA การละลายในน้ำจะเพิ่มขึ้น เมื่อหยด 20% NaOH ลงไป

ตารางที่ 7: สูตรรอบที่ 1 TCA ผสม NaOH เมื่อ pH สูงขึ้น ค่า % OCl^- ไม่คงสภาพเมื่อเก็บไว้

สูตร	**Day**	**Titration volume (ml)**	**% OCl^-**	**pH**
(1) Rx: TCA 1 g 20%NaOH 1 ml Water qs. ad. 100 ml	Day0	2.2 ml	0.566	4.81
	Day 1	2.0 ml	0.515	4.34
	Day 3	1.1 ml	0.283	6.77
	Day 5	0.5 ml	0.129	6.82
(2) Rx: TCA 1 g 20%NaOH 2 ml Water qs. ad. 100 ml	Day0	1.9 ml	0.489	6.88
	Day 1	1.6 ml	0.412	6.82
	Day 3	1.4 ml	0.361	6.82
	Day 5	1.3 ml	0.335	6.82

TCA 3.9% ให้ปริมาณ OCl^- 1.72% (คำนวณตาม molecular weight) เท่ากับ 2.5% NaOCl (1.72% OCl^-) เมื่อทดสอบการละลายเนื้อเยื่อเบื้องต้น โดยใช้เนื้อเยื่อหมูที่มีขนาด กว้าง x ยาว x หนา = 2 x 2 x 0.2 cm ผลการทดลองดังนี้

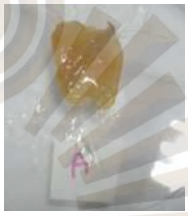
ตารางที่ 8: สูตรรอบที่ 2: TCA 3.9% (1.72% OCl^-) เปรียบเทียบผลการละลายเนื้อเยื่อกับ MU, CU

Formula	Preparation	pH	OCl^-	Tissuse disoving
1 (A)	น้ำยา NaOCl (MU lot 1)	13.14	1.16 %	✓ดี
2 (B)	น้ำยา NaOCl (MU lot 2)	13.05	1.47 %	✓ดีมาก
3 (C)	3.9% TCA (= 1.72% OCl^-)	4.99	1.72 %	X เนื้อเยื่อแข็ง
4 (D)	Oxone : TCA : Buffer-1 : Buffer-2 3 : 3.9 : 1 : 2 (gram in 100 ml)	2.42	1.72 %	X เนื้อเยื่อแข็ง
5 (E)	Virkon™ ผสมตามคำแนะนำบริษัท	2.02	0.13 %	X เนื้อเยื่อแข็ง
6 (5%NaOH)	5 % NaOH	14.29	-	✓ดีที่สุดละลายหมด

ตารางแสดงผลการศึกษาดูระดับค่า pH และ % OCl^- ที่มีต่อการละลายเนื้อเยื่อ

สรุป: pH เป็นด่างสูงละลายเนื้อเยื่อได้ดีกว่า และปริมาณ % OCl^- สูงขึ้นการละลายเนื้อเยื่อจะดีขึ้น

รูปที่ 2: แสดงตัวอย่างผลการทดลองละลายเนื้อเยื่อ จากสูตร A (MU lot 1)

0 hour	**1 hour**	**3 hour**	**5 hour**	**24 hour**	**72 hour**
					ใสและบาง
Tissuse disoving	+	++	+++	++++	+++++

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 9: สูตรรอบที่ 3 เปรียบเทียบสูตรที่ปรับสัดส่วน TCA, Buffer-1, Buffer-2 และ NaOH

สารเคมี	ปริมาณสารเคมี (กรัม)							
	สูตร 7	สูตร 8	สูตร 9	สูตร 10	สูตร 11	สูตร 12	สูตร 13	สูตร 14
TCA	0.35	0.7	0.75	0.7	0.7	0.76	0.86	0.8
Distilled wat	20	20	16.5	20	20	20	20	20
Buffer-1	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.75	1.5	1.5
Buffer-2	1.5	1.5	1.5	2.25	0.7	0.7	0.5	0.25
20% NaOH	6	8.5	23.5	7	20	20	20	20
Titration volume (ml)	3.2	5.7	-	-	3.8	2.4	4.7	4.5
% OCl^-	0.79%	1.4%	-	-	0.94%	0.6%	1.16%	1.11%
pH	12.92	13	13.29	12.64	13.58	13.50	13.58	13.61
Total	30 ml	30 ml	40 ml	30 ml	40 ml	40 ml	40 ml	40 ml
Physical proporties	- ppt brown	- ppt white	- ppt white ปรับ pH สูงกว่านี้ไม่ได้ ppt ↑	-ppt brown ปรับ pH สูงกว่านี้ไม่ได้ ppt↑	- ppt white	-เกิดก๊าซตลอดเวลา % OCl^- ↓	- ใส ppt White น้อยมาก	ใส

เลือกสูตรที่ 14 ที่มีความคงสภาพไปพัฒนาต่อไป

ตารางที่ 10: สูตรรอบที่ 4 TCA จากสูตรที่ 14 นำมาพัฒนาโดยปรับ pH >13 ด้วย NaOH

Ingredients (gram)	**TCA 1**	**TCA 2**	**TCA 3**
TCA	2.0	2.5	3.0
Distil. water qs. ad	100	100	100
Buffer-1	3.75	3.75	3.75
Buffer-2	0.5	0.5	0.5
20% NaOH	50 ml	50 ml	50 ml
Tritation volume	4.7 ml	6.0 ml	7.2 ml
% OCl^-	1.21%	1.48%	1.78%
pH	13.58	13.46	13.45
Physical proporties	ppt . over night	ppt . over night	ppt . over night

สูตร TCA 1-3 ไม่คงสภาพ

ตารางที่ 11: สูตรรอบที่ 5 TCA 4

Ingredients (gram)		**TCA 4-1**	**TCA 4-2**	**TCA 4-3**
TCA		2.0	2.0	2.0
Distil. water qs. ad		100	100	100
Buffer-1		3.75	3.75	3.75
Buffer-2		0.5	0.5	0.5
20% NaOH (ml)		25	22.5	20
Day 0	Tritation volume	5.7 ml	5.2 ml	4.9 ml
	% OCl^-	1.41%	1.29%	1.21%
	pH	13.23	13.00	12.80
	Physical proporties	ใส	ใส	ใส
Day1	Tritation volume	6.0 ml	5.2 ml	5.1 ml
	% OCl^-	1.48%	1.29%	1.26%
	pH	13.28	13.20	12.95
	Physical proporties	ใส	ใส	ใส
Day2	Tritation volume	5.8 ml	5.2 ml	5.1 ml
	% OCl^-	1.43%	1.29%	1.26%
	pH	13.16	12.91	12.70
	Physical proporties	ใส	ใส	ใส
Day3	Tritation volume	5.8 ml	5.2 ml	5.1 ml
	% OCl^-	1.43%	1.29%	1.26%
	pH	13.15	12.90	12.69
	Physical proporties	ใส	ใส	ใส
Day7	Tritation volume	5.8 ml	5.2 ml	5.1 ml
	% OCl^-	1.43%	1.29%	1.26%
	pH	13.15	12.91	12.68
	Physical proporties	ใส	ใส	ใส

* สูตร TCA 4 ได้สารละลายใส แต่ค่า pH และ % OCl^- เมื่อทิ้งไว้ 7 วันยังไม่คงสภาพ

ตารางที่ 12: สูตรรอบที่ 6 TCA 5 - TCA 8 เพิ่ม adjuvant ศึกษาความคงสภาพ

Ingredients (gm)		**TCA 5**	**TCA 6**	**TCA 7**	**TCA 8**
TCA		2.0	2.0	2.0	2.0
Distil. water qs. ad		100	100	100	100
Buffer-1		3.8	3.8	3.8	3.8
Buffer-2 + adjuvant		0.5 + 0	0.5 +0.275	0.5+0.075	0.5+0.28
20% NaOH (ml)		50	20	18	20
Day 0	Tritation volume	4.7 ml	5.0 ml	4.9 ml	5.1 ml
	% OCl^-	1.21%	1.24%	1.21%	1.26%
	pH	13.58	12.90	12.80	12.37
	Physical proporties	ppt. white	ใส	ใส	ใส

ตารางที่ 13: สูตรรอบที่ 7 เลือก TCA 8 มาพัฒนาสูตรและศึกษาความคงสภาพ

สูตร TCA 8	**Buffer-1**	**Buffer-2**	**20% NaOH**	**Water qs.ad**	**Adjuvant**	**TCA**	**Physical proporties**
TCA 8-1	3.8	0.5	40	100 ml	0	2 g	ใสไม่มีสี
	Day 0		Day 1		Day 7		
	pH 13.55	1.24% OCl^-	pH 13.47	1.19 % OCl^-	pH 13.60	1.19 % OCl^-	
TCA8-2	3.8	0.5	40	100 ml	0.06 g	2.0g	ใสไม่มีสี
	Day 0		Day 1		Day 7		
	pH 13.51	1.24% OCl^-	pH 13.47	1.24% OCl^-	13.52	1.24% OCl^-	
TCA8-3	3.8	0.5	20 ml	100 ml	0.06 g	2.0 g	ใสไม่มีสี
	Day 0		Day 1		Day 7		
	pH 12.90	1.26% OCl^-	pH 12.91	1.24% OCl^-	pH 12.86	1.24% OCl^-	
TCA8-4	3.8	0.5	13 ml	100 ml	0.06 g	2.0 g	ทิ้งไว้ ppt
TCA8-5	3.8	0.5	2 ml (?)	100 ml	0.06 g	2.0 g	ไม่ละลาย
TCA8-6	3.8	0.5	20 ml	100 ml	0.26 g	2.0 g	ละลายช้า ใสไม่มีสี
	Day 0		Day 1		Day 7		
	pH 12.90	1.24% OCl^-	pH 12.90	1.24% OCl^-	pH 12.90	1.24% OCl^-	
TCA8-7	3.8	0.5	18 ml	100 ml	0.06 g	0.06 g	ใสไม่มีสี
	Day 0		Day 1		Day 7		
	pH 12.70	1.24%OCl^-	pH 12.60	1.24% OCl^-	pH 12.64	1.24% OCl^-	

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

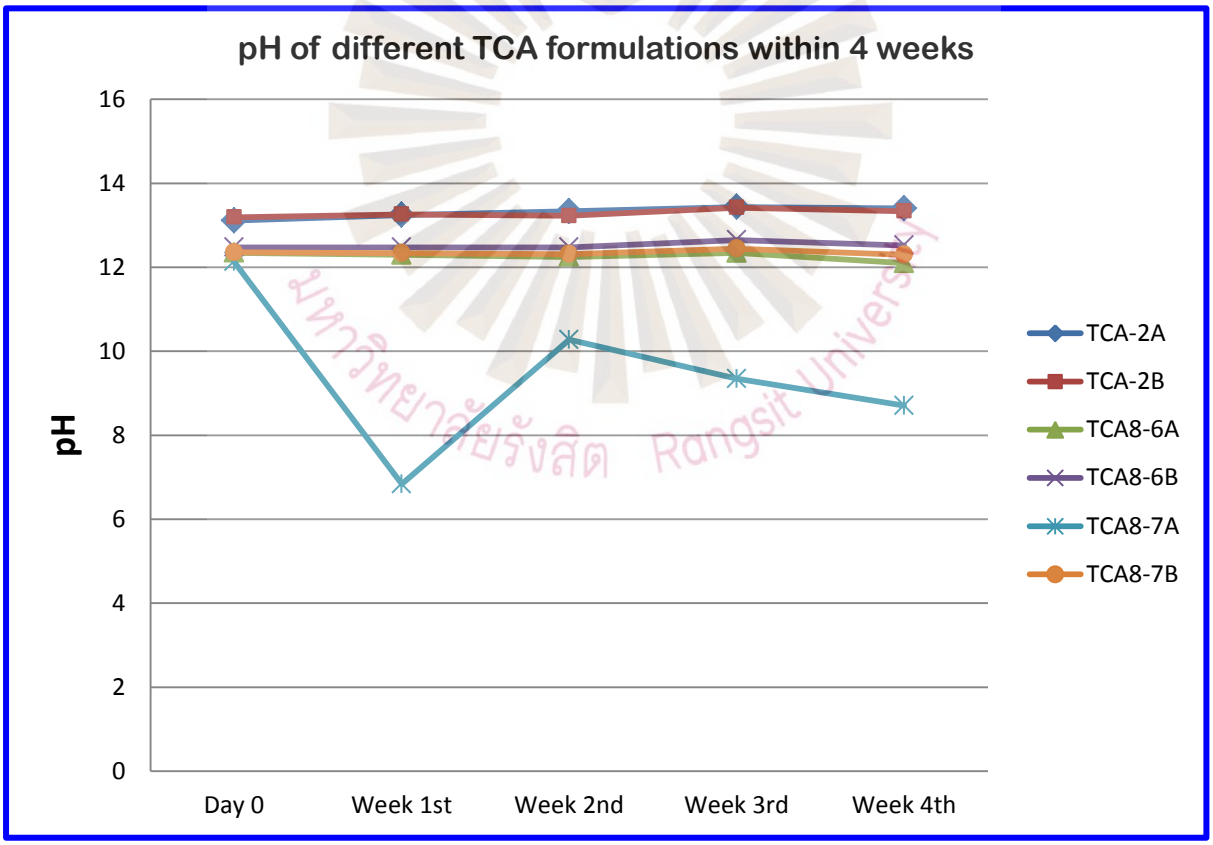
ตารางที่ 14: สูตรรอบที่ 8 พัฒนาสูตร TCA 2 และ TCA 8 ศึกษาความคงสภาพระยะเวลา 1 เดือน

Formula	Buffer-1	Buffer-2	20% NaOH	Adjuvant	TCA	Dist. water qs.ad
TCA 2A	3.8 g	0.5 g	50 ml	-	2 g	100 ml
TCA 2B	3.8 g	0.5 g	50 ml	0.16 g	2 g	100 ml
TCA 8-6A	3.8 g	0.5 g	20 ml	0.28 g	2 g	100 ml
TCA 8-6B	3.8 g	0.5 g	20 ml	0.28 g	1.8 g	100 ml
TCA 8-7A	3.8 g	0.5 g	18.4 ml	0.08 g	2 g	100 ml
TCA 8-7B	3.8 g	0.5 g	18.4 ml	0.08 g	1.8 g	100 ml

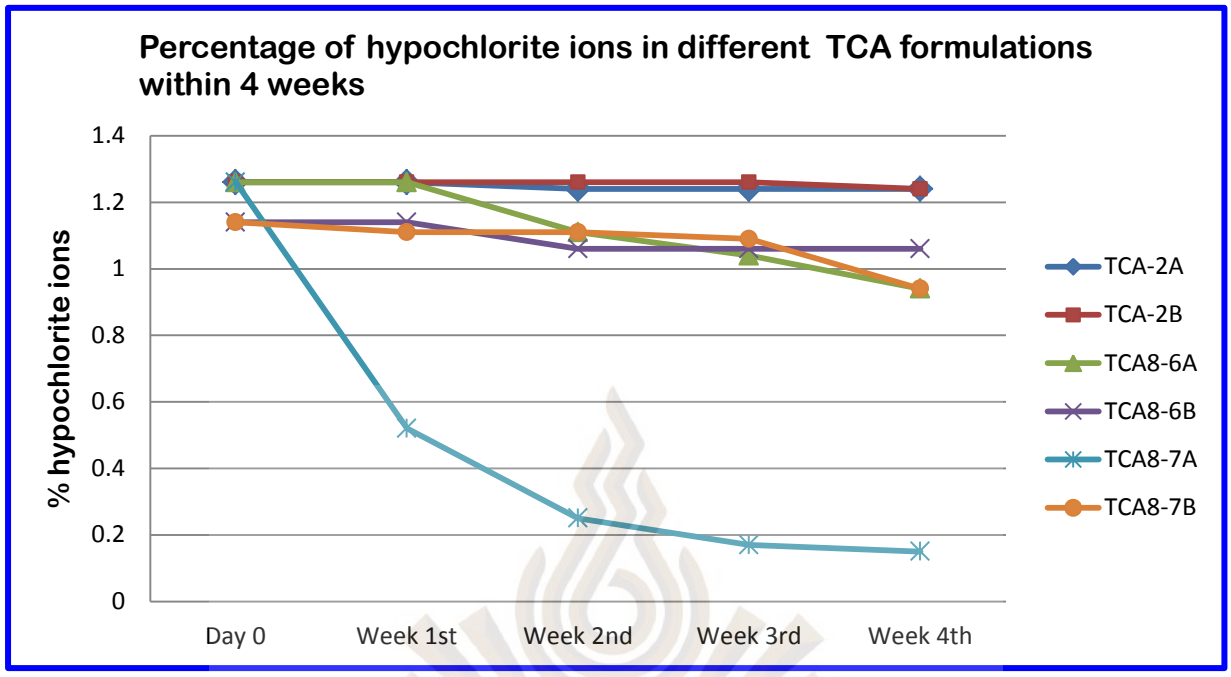
หมายเหตุ สูตร TCA2 พัฒนาสูตรมาจากตารางที่ 10

สูตร TCA8 พัฒนาสูตรมาจากตารางที่ 13

รูปที่ 3: แสดงค่า pH ของสูตรต่างๆที่เก็บไว้นาน 4 สัปดาห์

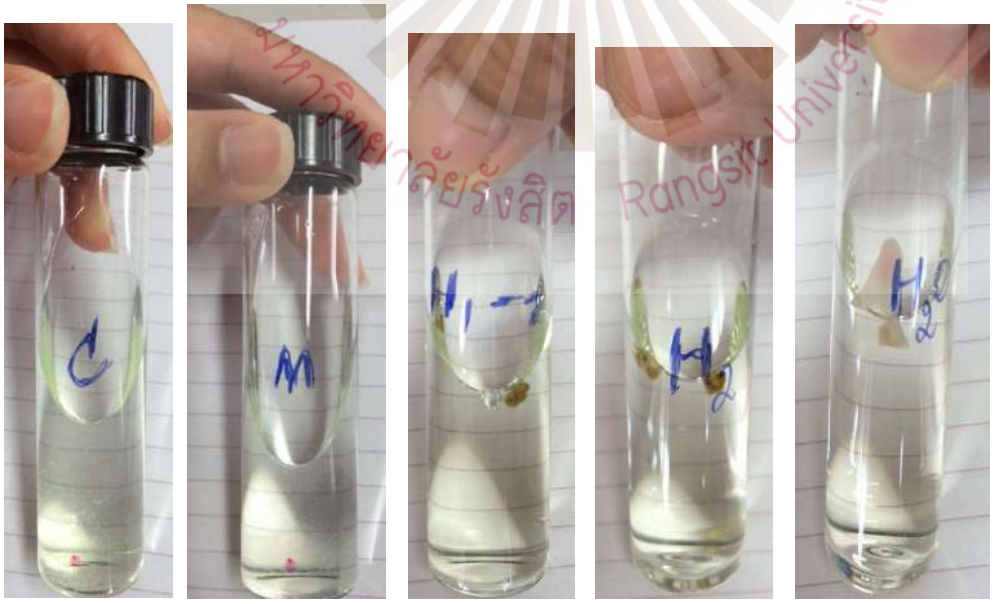


รูปที่ 4: ปริมาณไฮโปคลอไรท์อิออน (OCl^-) ของสูตรต่างๆที่เก็บไว้นาน 4 สัปดาห์



เลือกสูตร TCA 2B และ TCA 8-6B ที่คงสภาพหลังเก็บไว้ 4 สัปดาห์ไปทดสอบผลการออกฤทธิ์ต่อไป

รูปที่ 5: แสดงผลการละลายเนื้อเยื่อในจากฟันวัวในเวลานาน 1 ชั่วโมง
สูตร TCA 2B และ TCA 8-6B เปรียบเทียบกับสูตร CU, MU โดยใช้น้ำเป็นกลุ่มควบคุม



CU	MU	TCA 2B	TCA 8-6B	water (negative control)
ละลายหมด	**ละลายหมด**	**ละลายบางส่วน**	**ละลายบางส่วน**	**ไม่ละลายเลย**

ตารางที่ 15: สูตรรอบที่ 9 ศึกษาผลของ Buffer-1 ต่อการละลายเนื้อเยื่อใน

สูตร	Buffer-1 (g)	Buffer-2 (g)	20%NaOH (ml)	adjuvant (	TCA (g)	Distil. water qs. ad	Pulp tissue disolving	กลิ่น Cl_2
1	1/3 (1.25)	0.5	50	0.16	4	100	+2	+2
2	1/3 (1.25)	0.5	50	0.16	3.5	100	+2	+2
3	1/7 (0.5)	0.5	50	0.16	3.5	100	+3	+1
4	-	0.5	50	0.16	3.5	100	+3	+4
5	1/7 (0.5)	1	50	0.16	3.5	100	+3	+1
6	1 (3.8)	0.5	50	0.16	3.5	100	+1	0
7 (CU)	-	-	-	-	-	-	+3	+5

การทดลองลดปริมาณ Buffer-1 ในสูตรรอบที่ 9 (ดูสูตร 1,2,3,5,6) เมื่อเทียบกับสูตร CU พบว่า ปริมาณ buffer-1 มีผลต่อความสามารถในการละลายเนื้อเยื่อ แต่ผลการออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียด้อยลงหรือไม่ ดูผลการทดลองทางจุลชีววิทยาโดยใช้ broth micro-dilution technique ดังนี้

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

การทดสอบทางจุลชีววิทยา ดูผลการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* ใช้ broth micro-dilution technique

ผลการทดลอง:

1) สูตร1 และสูตร 2 เทียบ CU (สูตร 7) โดยการทำ dilution 0 - 2^9 เท่า ทุกสูตรยังฆ่าเชื้อได้

+ = Positive control

-= Negative control

1 = ไม่ dilute

2 = dilute 2 เท่า

3 = dilute 2^2 เท่า

4 = dilute 2^3 เท่า

5 = dilute 2^4 เท่า

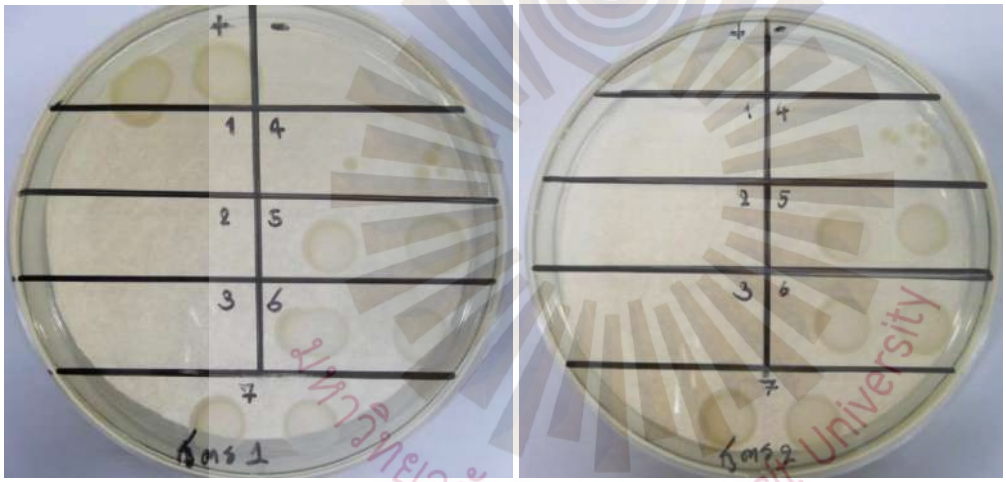
6 = dilute 2^5 เท่า

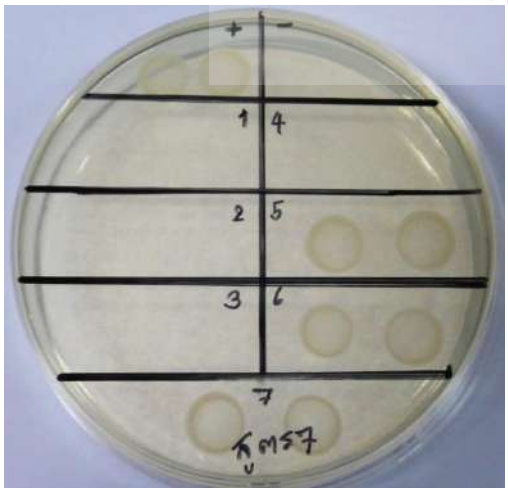
7 = dilute 2^6 เท่า

8. = dilute 2^7 เท่า

9 =dilute 2^8 เท่า

10 = dilute 2^9 เท่า

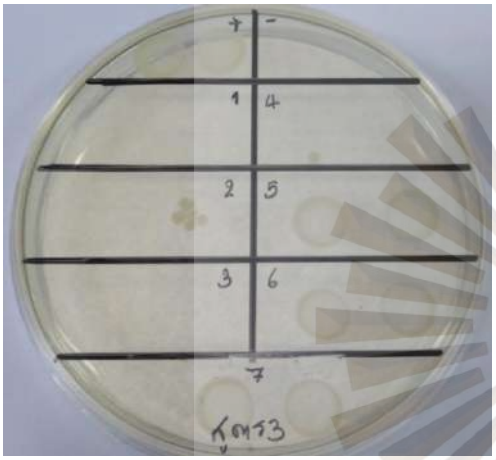


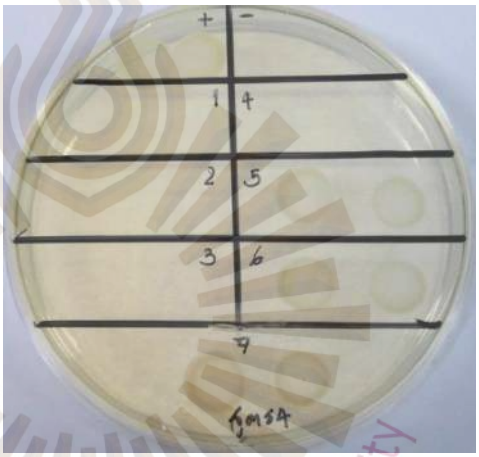


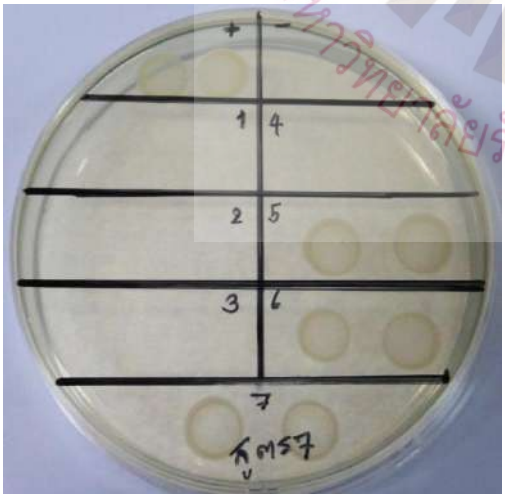
รูปที่ 6 สูตร 1 และสูตร 2 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

2) สูตร 3 และสูตร 4 เทียบ CU (สูตร 7) โดยการทำ dilution 0 - 2^9 เท่า ทุกสูตรยังฆ่าเชื้อได้







+ = Positive control

-= Negative control

1 = ไม่ dilute

2 = dilute 2 เท่า

3 = dilute 2^2 เท่า

4 = dilute 2^3 เท่า

5 = dilute 2^4 เท่า

6 = dilute 2^5 เท่า

7 = dilute 2^6 เท่า

8. = dilute 2^7 เท่า

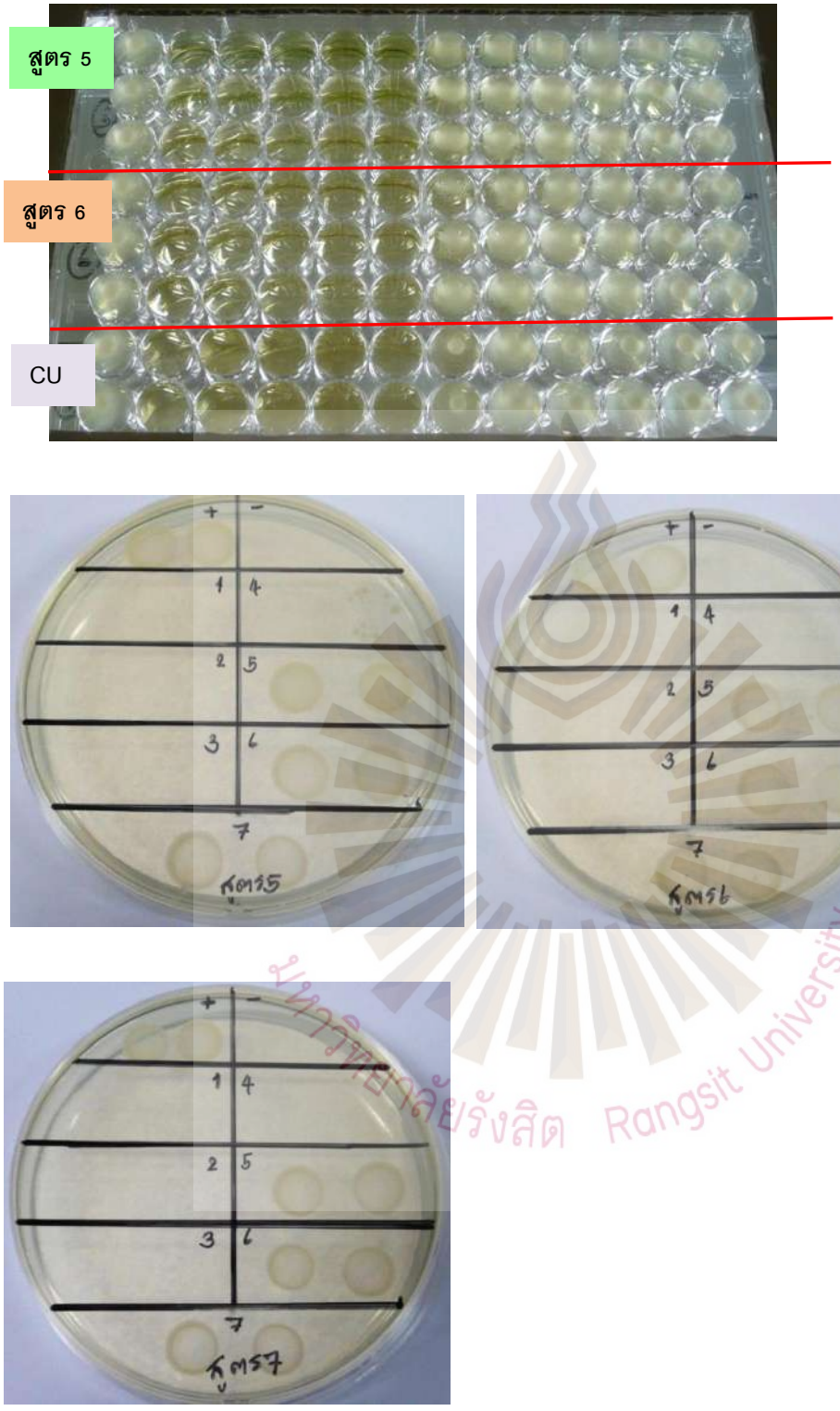
9 =dilute 2^8 เท่า

10 = dilute 2^9 เท่า

รูปที่ 7 สูตร 3 และสูตร 4 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

3) สูตร 5 และสูตร 6 เทียบ CU (สูตร 7) โดยการทำ dilution 0 - 2^9 เท่า ทุกสูตรยังฆ่าเชื้อได้



รูปที่ 8 สูตร 5 และสูตร 6 เปรียบเทียบกับ CU (สูตร 7) ในการทดลองทางจุลชีววิทยา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สรุปผลการออกฤทธิ์ TCA 3.5% + 1/7 Buffer-1

- ผลการละลายเนื้อเยื่อในไม่แตกต่างจากสูตร CU
- ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ไม่แตกต่างจากสูตร CU

งานวิจัยส่วนที่ 2: ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย

<u>วิธีทำ</u>: การทดสอบ Agar diffusion technique

การทดสอบ agar diffusion technique ใช้จานเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง BHI agar (BD, USA) ปริมาตร 25 มล. เตรียมเชื้อ *E. faecalis* ในอาหารเหลวให้มีความหนาแน่น 1-5 x 10^5 CFU/ml ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ จุ่มสารละลายเชื้อและทาเชื้อให้ทั่วผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งจนทั่วทั้งจาน นำสารละลายไฮโปคลอไรท์ 20 ไมโครลิตร หยดลงบน paper disc ที่ปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. จากนั้นนำ disc ที่มีสารทดสอบ ไปวางไว้บนอาหารแข็งที่ได้ทาเชื้อไว้ โดยให้มีระยะห่างกันพอสมควร นำไปบ่มที่ 37ºC ในบรรยากาศที่มี 5% CO_2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลและเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ของไฮโปคลอไรท์ แต่ละสูตร

สูตรรอบที่ 1: สูตรที่ใช้ในการทดสอบ

น้ำยา 10% NaOCl จากบริษัท POSE HEALTH CARE LIMITED. Lot No. 15071 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณ available chlorine ก่อน แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 – 2.5% NaOCl ได้เป็นสูตร A – E ตามตาราง 16 แล้วนำมาศึกษาเปรียบเทียบกับสูตรที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ และสูตร CU, MU ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

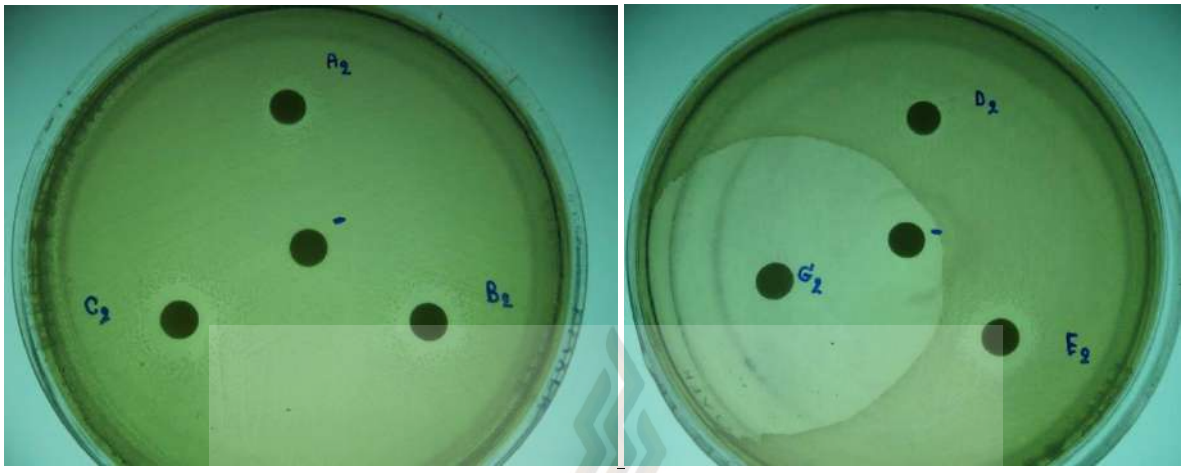
ตารางที่ 16 น้ำยาล้างสูตรต่างๆที่เตรียมจากน้ำยา NaOCl นำมาประเมินประสิทธิภาพในการฆ่า *E.faecalis* ด้วยวิธี agar diffusion

Ingredient	Formula						
	A	B	C	D	E	G	negative control
% NaOCl	0.5	1	1.5	2	2.5		
% TCA (plus adjuvant)						3.5 (plus1/7Buffer-1)	
NaCl							0.9% (NSS)

หมายเหตุ น้ำยา NaOCl เตรียมจาก 10% NaOCl ของบริษัท POSE HEALTH CARE LIMITED

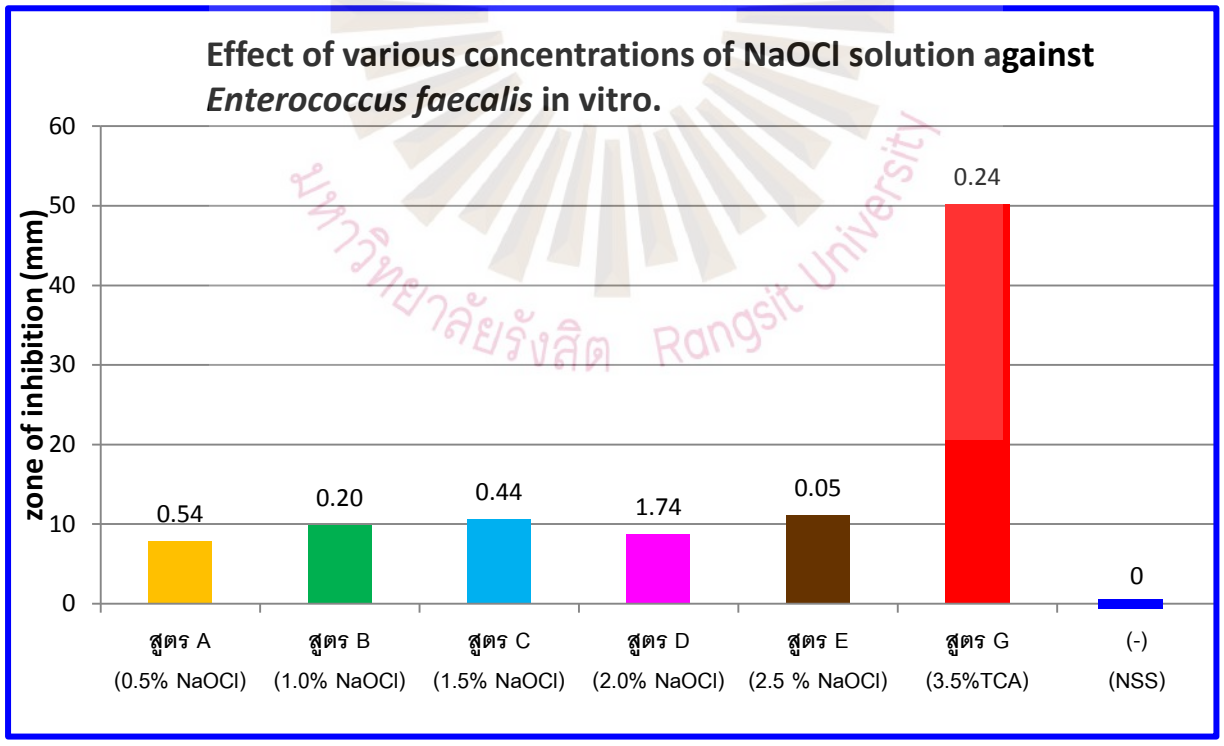
ผลการทดลอง :

รูปที่ 9 ตัวอย่างผลการฆ่าเชื้อ *E. faecalis* ของสูตร A-G ด้วยวิธี agar diffusion



สำหรับความกว้างของน้ำยาล้างสูตรต่างๆ ที่สามารถฆ่า *E. faecalis* (Zone of inhibition) โดยวิธี agar diffusion แสดงตามรูปที่ 10

รูปที่ 10 แสดง zone of inhibition ของสูตร 3.5 % TCA เปรียบเทียบกับสูตรต่างๆ



สรุป : สูตร G ให้ผลต้านเชื้อ *E. faecalis* ได้ดี จึงเลือกมาทำการทดสอบประสิทธิภาพความเร็วที่น้ำยามีผลในการฆ่าเชื้อในระยะเวลาต่างๆกัน โดยการเปรียบเทียบกับสูตรที่มีจำหน่ายในท้องตลาดต่อไป

ผลการทดลองสูตร G: **การประเมินผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยให้น้ำยาสัมผัสเชื้อโดยตรงตามระยะเวลาที่ต่างกัน**

จากสูตร G นำมาพัฒนาสูตรอีกครั้งโดยปรับปริมาณ adjuvant ให้มีความเข้มข้น 2 ระดับสูตร A และ B ตามตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 17 น้ำยาล้างสูตรต่างๆที่นำมาประเมินประสิทธิภาพในการฆ่า *E.faecalis* โดยวิธี direct contact

Ingredient	Formula					
	A	B	C	D	M	negative control
% NaOCl			(CU)	2.5	(MU)	
% TCA (+ adjuvant)	3.5 (plus 1/7Buffer-1)	3.5 (plus 1/6 Buffer-1)				
NaCl						0.9% (NSS)

ผลการทดลอง พบว่าทุกสูตรสามารถฆ่าเชื้อได้เมื่อเชื้อสัมผัสน้ำยาตั้งแต่ 30 วินาที ถึง 30 นาที แสดงผลการทดลองตารางที่ 18

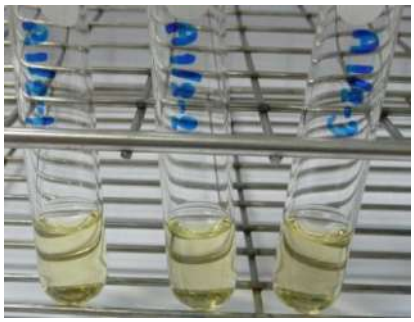
ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพของน้ำยาสูตรต่างๆในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เวลา 30 วินาที ถึง 30 นาที

สูตร	ระยะเวลาที่น้ำยาสัมผัสเชื้อ (n = 8)			
	30 วินาที	1 นาที	10 นาที	30 นาที
A	-	-	-	-
B	-	-	-	-
C	-	-	-	-
2.5%NaOCl	-	-	-	-
MU	-	-	-	-
NSS	+	+	+	+

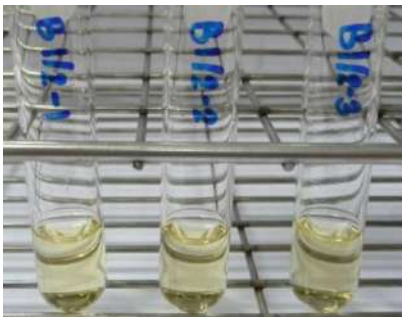
+ หมายถึง มีเชื้อขึ้น , - หมายถึง ไม่มีเชื้อขึ้น

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

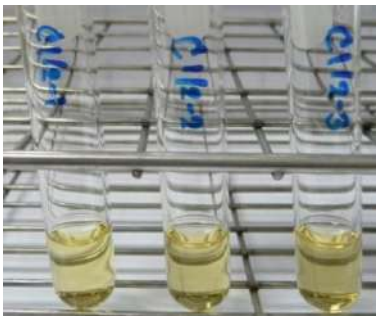
รูปที่ 11 แสดงผลทางจุลชีววิทยาของน้ำยาสูตรต่างๆที่ใช้ทดสอบ ในเวลา 30 วินาที



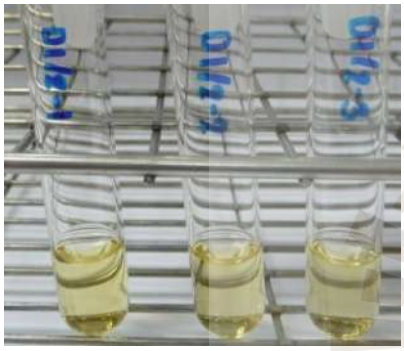
สูตร A



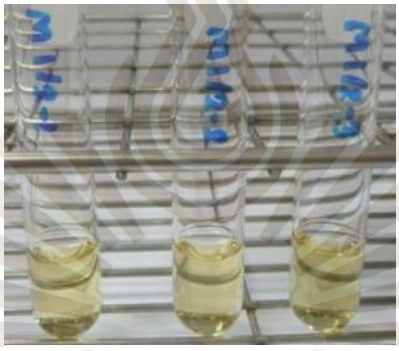
สูตร B



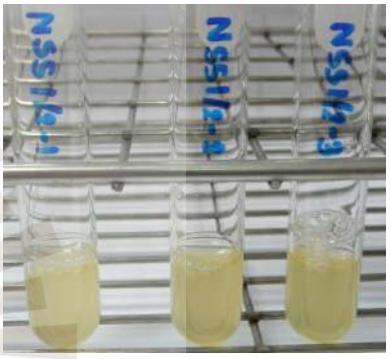
สูตร C



สูตร 2.5%NaOCl



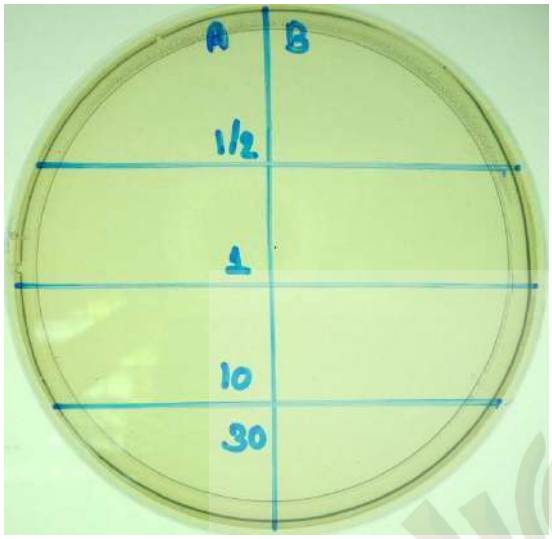
สูตร MU



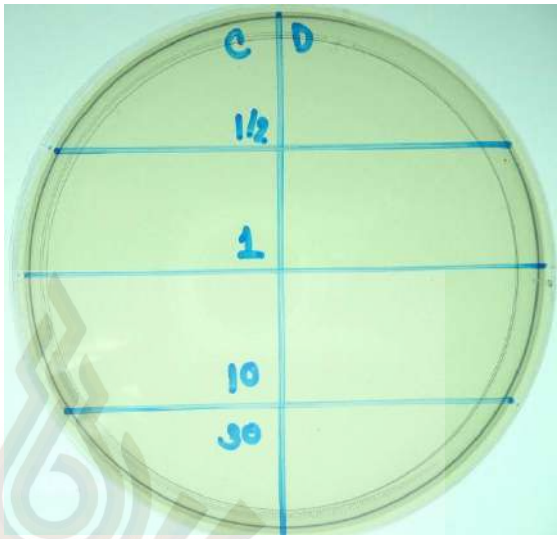
สูตร NSS

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

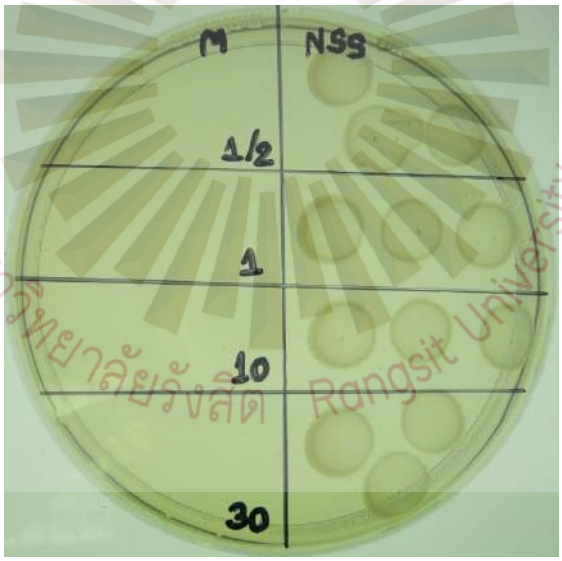
รูปที่ 12 แสดงไม่มีเชื้อแบคทีเรียขึ้นบน BHI agar ภายหลังแบคทีเรียสัมผัสน้ำยาสูตรต่างๆ ตั้งแต่ 30 วินาที-30 นาที ภายหลัง incubate ต่อเป็นเวลา 7 วัน ยกเว้นกลุ่ม NSS



สูตร A, B



สูตร C, D



สูตร M, NSS

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

งานวิจัยส่วนที่ 3: การประเมินประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อในของฟันวัว

จากการให้เนื้อเยื่อในของฟันวัวสัมผัสกับน้ำยาทั้ง 5 สูตร คือ สูตร TCA 3.5%+1/7 Buffer -1, TCA 3.5%+1/6 Buffer -1, CU, MU และ 2.5%NaOCl โดยมี NSS เป็นกลุ่มควบคุม %Tissue loss ของน้ำยาสูตรต่างๆ และ NSS ตามรูปที่ 13

จากการวิเคราะห์ด้วยสถิติ Mann-Whitney U test พบว่า ทั้ง 2 สูตร ที่พัฒนาใหม่ไม่แตกต่างกัน แต่สูตร TCA 3.5%+1/7 Buffer -1 ละลายเนื้อเยื่อในได้ดีกว่าสูตร 2.5% NaOCl และสูตร CU ละลายเนื้อเยื่อในได้ดีกว่า 2.5% NaOCl ($p<0.05$) สำหรับกลุ่ม NSS มีผลในการละลายเนื้อเยื่อในด้อยกว่าสูตรน้ำยาล้างไฮโปคลอไรท์ทุกสูตร ($p=0.000$) ตามตารางที่ 19

สรุป สูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนทั้งสองสูตร มีประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อในวัวไม่ต่างกันและไม่ต่างจากสูตรที่มีขายในท้องตลาด

งานวิจัยส่วนที่ 4:

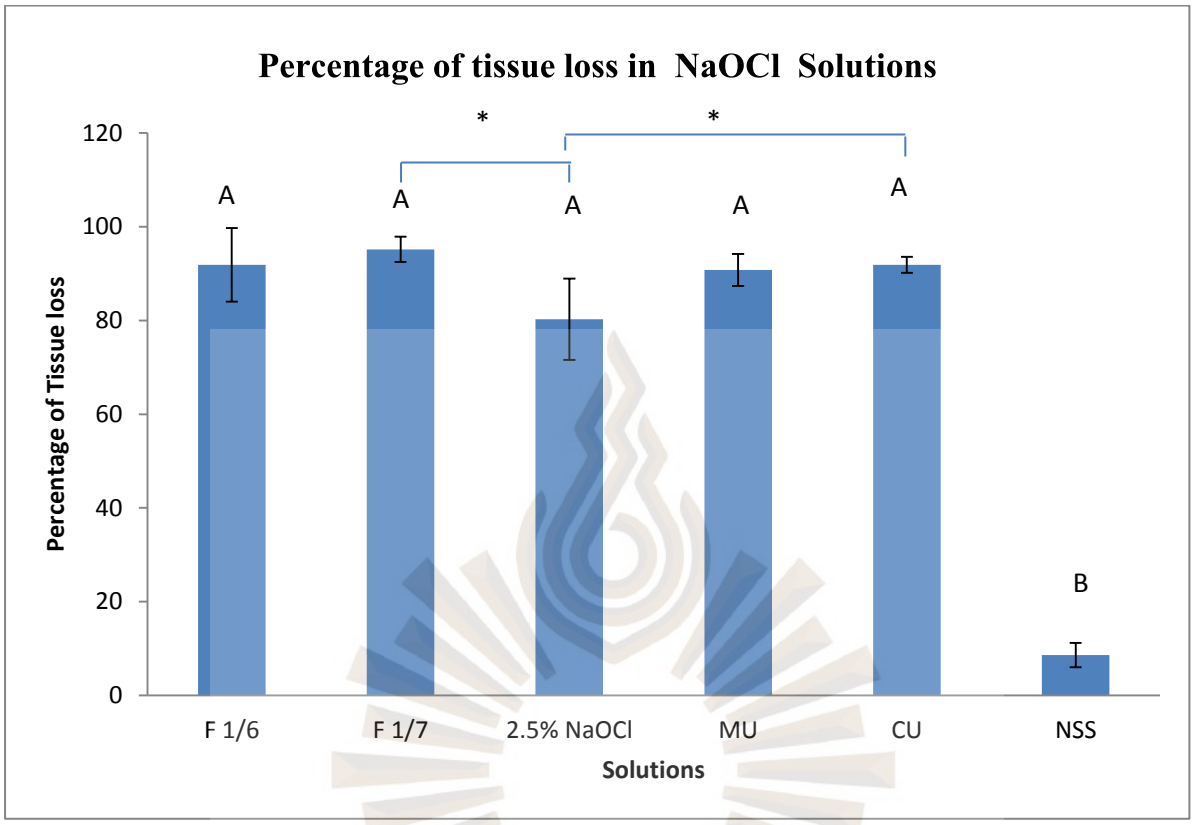
ผลการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ภายหลังสัมผัสน้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ทั้ง 5 สูตร , positive control และ negative control มีเซลล์เหลือดังรูปที่ 14 และเมื่อนำค่าความมีชีวิตของเซลล์ที่เหลือไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ที่ความเข้มข้น 20% และ 2% TCA ทั้งสูตร1/7 และ 1/6 มีพิษในระดับเดียวกับสูตร CU, MU 2.5% NaOCl และ positive control ($p>0.05$) แต่เมื่อความเข้มข้นลดลงเป็น 0.2% TCA สูตร 1/7 และ1/6 มีความเป็นพิษไม่ต่างจากสูตร CU, MU, 2.5% NaOCl ($p>0.05$) แต่มีพิษน้อยกว่า positive control ($p=0.001$) และมีพิษมากกว่า negative control ($p=0.001$) ส่วนที่ความเข้มข้นเจือจางที่สุด 0.02% ทุกสูตรของน้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีขายในท้องตลาด และที่พัฒนาขึ้นใหม่มีความเป็นพิษไม่ต่างจาก negative control ($p=1.000$) แต่น้อยกว่า positive control ($p=0.001$)

<u>สรุป</u> น้ำยาล้างคลองรากฟันไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน สูตร TCA3.5%+1/7Buffer-1 และ TCA3.5%+1/6Buffer-1 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบ ไม่ต่างจากน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ขายในท้องตลาด

งานวิจัยส่วนที่ 5:การประเมินกลิ่นคลอรีน

ผู้วิจัยได้ประเมินกลิ่นทุกครั้งที่ปรับสูตรด้วยนักวิจัย 2 คน เปรียบเทียบกลิ่นกับสูตรที่มีจำหน่ายในท้องตลาด คือCU และMU โดยสูตรที่เลือกมาทดลองตั้งแต่ TCA2-8 ไม่มีกลิ่นทุกสูตร

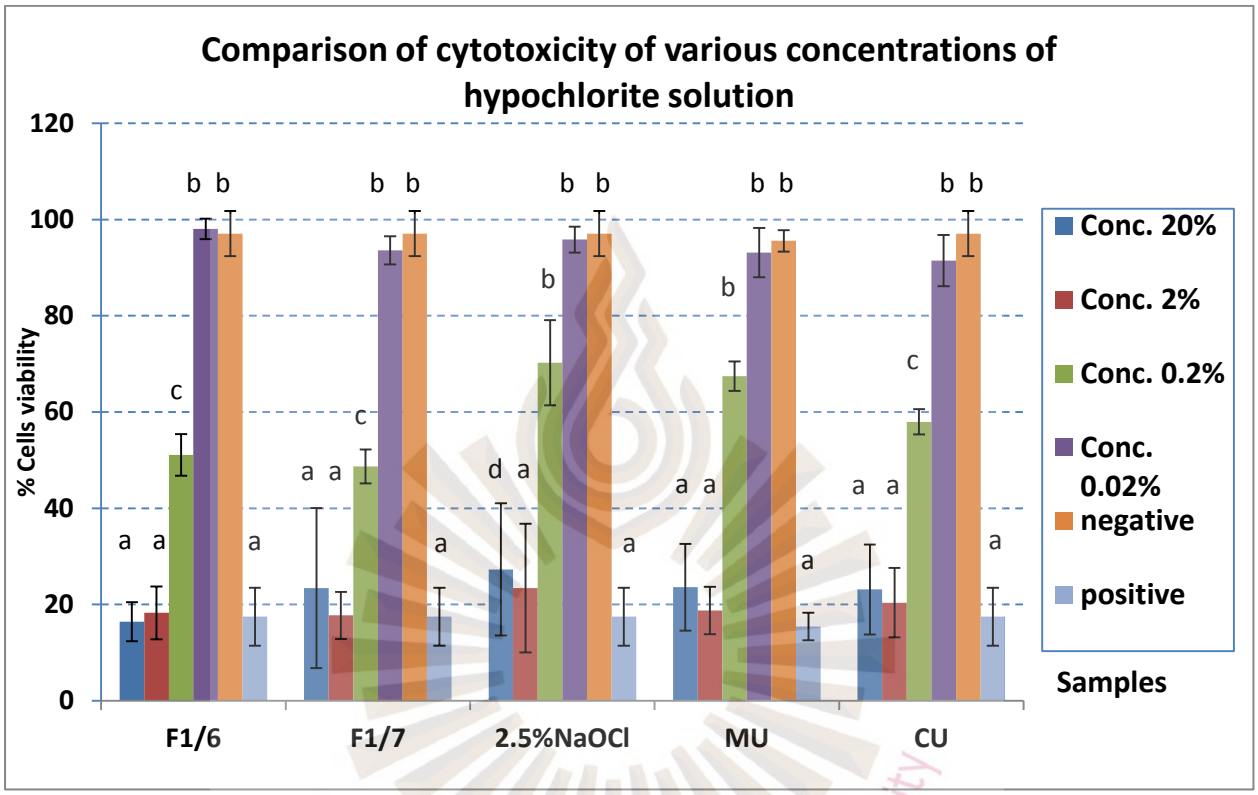
รูปที่ 13 เปอร์เซ็นต์ Tissue Loss ของน้ำยาสูตรต่างๆในเวลา 20 นาที



ตารางที่ 19 แสดงการวิเคราะห์สถิติการละลายเนื้อเยื่อในวัวของน้ำยาล้างสูตรต่างๆ * (p = 0.000)

ผลการทดสอบสถิติในการละลายเนื้อเยื่อในสารละลายต่างๆ						
	F1/6	F1/7	2.5%NaOCl	MU	CU	NSS
F1/6		-	-	-	-	*
F1/7			*	-	-	*
2.5%NaOCl				-	*	*
MU					-	*
CU						*
NSS						*

รูปที่ 14 ร้อยละของเซลล์ที่เหลือภายหลังสัมผัสน้ำยาล้างคลองรากฟัน 5 สูตรที่ความเข้มข้นต่างๆ negative และ positive control (อักษรเหมือนกันไม่ต่างกัน $p>0.05$)



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 5
สรุป และอภิปรายผล

สรุปผลการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 ในการพัฒนาสูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนจากสารเริ่มต้น TCA (Trichloroisocyanuric acid) พบว่า TCA 3.5%+1/7 Buffer-1 และ TCA 3.5%+1/6 Buffer-1 ภายหลังประเมินความคงสภาพระยะสั้นในระยะเวลา 1 เดือนมีค่า pH และ hypochlorite ion ที่คงที่ ดังรูปที่3-4 และเมื่อนำไปประเมินสมบัติเบื้องต้นในเรื่องการต้านฤทธิ์แบคทีเรีย *E. faecalis* โดยใช้ broth micro-dilution technique ดังรูปที่ 6-8 และสมบัติการละลายเนื้อเยื่อ ดังรูปที่ 5 พบว่าไม่แตกต่างจากน้ำยาล้างคลองรากฟัน CU ที่มีขายในท้องตลาด จึงได้นำทั้ง 2 สูตรมาประเมินสมบัติในขั้นตอนที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับต่อไป โดยเปรียบเทียบกับน้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีขายในท้องตลาด คือ CU, MU และ 2.5% NaOCl โดยมี NSS เป็นกลุ่มควบคุม

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้แบคทีเรีย *E.faecalis* เพราะเป็นแบคทีเรียที่ค่อนข้างดื้อต่อการรักษาในการรักษาคลองรากฟัน โดยวิธี direct contact นั่นคือให้น้ำยาทุกสูตรสัมผัสกับ *E. faecalis* ตั้งแต่เวลา 30 วินาที, 1, 10 และ 30 นาที พบว่าทุกสูตรสามารถฆ่าแบคทีเรียได้ตั้งแต่ 30 วินาที และไม่มีเชื้อขึ้นในทุกระยะเวลาที่ทดสอบ ในขณะที่กลุ่มควบคุม NSS ไม่มีผลในการฆ่าแบคทีเรีย เมื่อนำน้ำยาล้างคลองรากฟันทุกสูตรไป incubate ต่ออีก 7 วัน และนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น และ incubate อีกเป็นเวลา 3 วัน ก็ยังคงไม่พบเชื้อแบคทีเรียขึ้นบนอาหารวุ้นในทุกช่วงเวลาที่ศึกษา ดังตารางที่ 18 และรูปที่ 11-12

ขั้นตอนที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อใน ซึ่งเป็นสมบัติอันพึงประสงค์ของน้ำยาล้างคลองรากฟัน % Tissue loss ของเนื้อเยื่อในวัว ภายหลังสัมผัสกับน้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีขายในท้องตลาด และสูตร TCA 2 สูตร ที่ผลิตขึ้นใหม่ ค่อนข้างสูงถึง 80%-95% ในขณะที่เนื้อเยื่อในวัวที่แช่ใน NSS มีค่า % loss เท่ากับ 8% อย่างไรก็ตามค่า % tissue loss ของสูตร TCA 3.5% + 1/7 Buffer-1, TCA 3.5% + 1/6 Buffer-1 ไม่ต่างกัน และไม่ต่างจากสูตร CU และ MU ดังตารางที่ 19 และรูปที่ 13

ขั้นตอนที่ 4 การประเมินความเป็นพิษของน้ำยาล้างคลองรากฟันทุกสูตร ตาม ISO 7405:2008 Destistry-Evaluation of biocompatibility of medical device used in dentistry โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ นำทุกสูตรที่ศึกษามาเจือจางเป็นความเข้มข้น 20%, 2%, 0.2% และ 0.02% ตามลำดับ และให้สัมผัสกับเซลล์ L929 cell line เป็นเวลา 24 ชม. โดยใช้ Thermanox plastic coverslip เป็น negative control และ polyvinyl chloride เป็น positive control พบว่าในทุกความเข้มข้นที่ศึกษาทั้ง 2 สูตรที่พัฒนาขึ้นมามีความเป็นพิษไม่แตกต่างจากสูตรที่มีขายในท้องตลาดซึ่งนำมาศึกษาเปรียบเทียบ ดังรูปที่ 14

อภิปรายผลการวิจัย

สูตรสารละลายไฮโปคลอไรท์ TCA 3.5+1/7 Buffer-1 และ TCA 3.5+1/6 Buffer-1 ที่ได้พัฒนาขึ้นเป็นสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน ซึ่งเป็นกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ในระหว่างการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันของการรักษาในคลินิก การใส่ Buffer-1 เข้าไปจับ Cl_2 ช่วยทำให้น้ำยาล้างคลองรากฟันสูตรดังกล่าวไม่มีกลิ่นคลอรีนระเหยออกและสูตรที่พัฒนาดังกล่าวนี้ เมื่อศึกษาสมบัติที่น้ำยาล้างคลองรากฟันควรจะมี ประการแรกคือ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และประการที่สองคือ ประสิทธิภาพในการละลายเนื้อเยื่อใน เพื่อให้น้ำยาล้างไหลเข้าไปทำลายแบคทีเรียและละลายเนื้อเยื่อในบริเวณที่เครื่องมือขยายคลองรากฟันไม่สามารถเข้าไปได้โดยสมบัติ 2 ประการดังกล่าวข้างต้น น้ำยาไฮโปคลอไรท์ที่ปราศจากกลิ่นคลอรีนก็ออกฤทธิ์ได้ดี เทียบเท่ากับน้ำยาคลองรากฟันที่มีขายในท้องตลาด

สำหรับสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาที่มีขายในท้องตลาดไม่แตกต่างกันในทุกความเข้มข้นที่ศึกษาตามหลักเกณฑ์ของ ISO 7405 ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.02% ของทุกสูตรมีพิษไม่ต่างจาก negative control อย่างไรก็ตามการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันประเภทสารละลายไฮโปคลอไรท์ในทางคลินิกจะต้องมีความระมัดระวังไม่ให้เกินออกไปนอกปลายรากฟันทาง apical foramen เพราะสารประเภทนี้เมื่อสัมผัสเนื้อเยื่อปลายรากฟันย่อมทำให้เกิดอาการปวดและบวมอย่างรุนแรง

ดังนั้น TCA 3.5+1/7 Buffer-1 และ TCA 3.5+1/6 Buffer-1 เป็นอีกทางเลือกของน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ปราศจากกลิ่นคลอรีน และมีสมบัติของน้ำยาล้างคลองรากที่ต้องการทุกประการ การผลิตออกสู่ตลาดเพื่อให้ทันตแพทย์ได้ใช้ในงานรักษาคลองรากฟันจึงเป็นเป้าหมายต่อไป

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บรรณานุกรม

1. Sjögren U, Högglund B, Sundqvist G, Wing K, Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. Journal of Endodontics 16 (1990): 498-504.

2. Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrument and various medications. Journal of Endodontics 26 , (2000): 751-5.

3. Zchnder M. Root canal irrigants. Journal of Endodontics 32 (2006): 389-98.

4. Basvani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. Endodontic Topics 24 (2012): 74-102.

5. Vajrabhaya L, Sangalungkan V, Kamolroongwarakul R, Apai W, Limmerchangchai S, Yingtanothai. Five EDTA formulae in smear layer removal in canal instrumentation. The Journal of the Dental Association of Thailand 54 (2004):112-22.

6. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scandinavian Journal of Dental Research 89 (1981); 321-8.

7. Bystrom A and Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.05 percent sodium hypochlorite in the endodontic therapy. Oral Surgery 55 (1983): 307-12.

8. Bystrom H, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. International Endodontic Journal 18(1985): 35-40.

9. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the climination of Enterococcus faecalis. International Endodontic Journal 34 (2007): 424-8.

10. Gardon TM, Damals D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. Journal of Endodontics 7 (1981): 466-9.

11. Abou-Rass M, Oglesby SW. The effect of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. Journal of Endodontics 7 (1981): 376-7.

12. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Boombana AC, Figueiredo JAP. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. International Endodontic Journal 37 (2004): 38-41.

13. International Organization for Standardization ISO 7405 Dentistry -Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. ISO (2008)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก

แบบรายงานผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง
มหาวิทยาลัยรังสิต

---

1. ชื่อโครงการวิจัย :

ภาษาไทย : การพัฒนาสูตรน้ำยาล้างคลองรากฟันโซเดียมไฮโปคลอไรท์

ภาษาอังกฤษ : Developing of Sodium Hypochlorite Formulation for Root Canal Irrigant

2. ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ละอองทอง วัชราภัย

3. หน่วยงานที่สังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

ข้อเสนอโครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลองแล้ว เห็นว่ามีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์ สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง ตามข้อเสนอการวิจัยนี้ได้

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มีมติเห็นชอบ ดังนี้

(✓) รับรองโครงร่างการวิจัย

( ) ไม่รับรอง

5. หมายเลขที่ให้การรับรอง : RSEC 01/2557

6. วันที่ให้การรับรองและวันที่สิ้นสุด : 1 กรกฎาคม 2557 – 31 มกราคม 2559

ลงนาม .....

(รองศาสตราจารย์ ดร.พนมจันทร์ อยู่แพทย์)
ประธานคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง
มหาวิทยาลัยรังสิต

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

15. ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

คำนำหน้า ☐ นาย ☑ นาง ☐ นางสาว

ตำแหน่งทางวิชาการ ☑ ศ. ☐ รศ. ☐ ผศ. ☐ อื่นๆ _____

ชื่อผู้วิจัย ___ละอองทอง _____

นามสกุลผู้วิจัย ____วัชราภัย_____

ชื่อภาษาอังกฤษ ___Prof.La-ongthong_____

นามสกุลภาษาอังกฤษ __Vajrabhaya_____

วัน/เดือน/ปี เกิด ____3 กันยายน 2494_____

ที่อยู่(บ้าน) __168/1 สุขุมวิท 49-8 เขตวัฒนา แขวงคลองตันเหนือ_____

จังหวัด(บ้าน) _____ กรุงเทพมหานคร_____

รหัสไปรษณีย์(บ้าน) _____10110_____

โทรศัพท์(บ้าน) _____02-392-1416_____

แฟ็กซ์(บ้าน) ___-_____

ที่อยู่(ที่ทำงาน) ____คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต_____

จังหวัด(ที่ทางาน) _____ปทุมธานี_____

รหัสไปรษณีย์(ที่ทำงาน) _____12000_____

โทรศัพท์(ที่ทำงาน) ____02-997-2200-30 ext 4392_____

แฟ็กซ์(ที่ทำงาน) _____02-997-2200-30 ext. 4321_____

E-Mail Address : __la-ongthong.v@rsu.ac.th_____

ปริญญาตรี

สาขา _____ทันตแพทยศาสตร์_____

ปีที่จบ _____2518_____

สถาบัน _____คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

ประเทศ _____ไทย_____

ปริญญาโท ป.บัณฑิตชั้นสูง

สาขา ____วิทยาเอ็นโดดอนต์_____

ปีที่จบ _____2521_____

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สถาบัน _____คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

ประเทศ _____

ปริญญาเอก -

สาขา _____-_____

ปีที่จบ _____

สถาบัน _____

ประเทศ _____

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารภายในประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1. Timpawat S, Vajrabhaya L. Comparison of sealing properties of root canal cements. J Dent Assoc Thai 38: 49-54, 1988.
2. Cheevaprasert C, Vajrabhaya L. Effect of immediate and delayed post space preparation on apical seal. M Dent J 7:8-14, 1987.
3. Vajrabhaya L, Timpawat S, Luanratana O. Comparison of efficiency of sealing ability of six intermediate restorative materials. M Dent J 8:41-7, 1988.
4. Vajrabhaya L, Chotriratanasak M, Vongsawan N. Evaluation of apical seal obturated by Sectional and thermoplasticized warm gutta-percha technique using I-125 M Dent J 11: 30 –4, 1991.
5. Timpawat S, Vajrabhaya L. Comparison of sealing properties of root canal cements. J Dent Assoc Thai 38:49-54, 1988.
6. Vajrabhaya L, Kanchanatawewat K, Lurnratana O. Evaluation of apical seal between sectional warm gutta-percha technique and lateral condensation technique with dowel space preparation. J Dent Assoc Thai 43:129-34, 1993.
7. Vajrabhaya L, Sithisarn S, Veerarakdaecha P. Toxicity of ROCANAL 3 VS MU sealer on Balb/c mouse primary cell culture J Dent Assoc Thai 43: 129-34, 1992 .
8. Vajrabhaya L, Waiakul A, Autayapamonvat S.: Toxicity evaluation of MU sealer and ROCANAL on human gingival cell cultures. M Dent J 13:11-18, 1993.
9. Vajrabhaya L, Kiratiwongwan T: Evaluation of apical leakage between ROCANAL 3 and lateral condensation technique. J Dent Assoc Thai 46:111-6, 1996.
10. Vajarabhaya L and Sithisarn S.: Toxicity and recovery evaluation of endodontic cement. J Dent Assoc Thai 47:176-182, 1997.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

11. Vajrabhaya L: Relationship between root determination by Apex locator and radiograph. J Dent Assoc Thai 49:241-246, 1997.

12. Vajrabhaya L, Jaturabundit W, Surarit R. Effect of Thai Milk Products on the Viability of PDL Cells. J Dent Assoc. Thai 50:203-9, 2000.

13. Vajrabhaya L, Korsuwannawong S, Schmlz G, Schuster W. Cytotoxicity evaluation of single bottle dentine bonding system on 3-D cell culture. Mahidol J 7 Supplement : 61-66,2000.

14. Vajrabhaya L, K Suwannawong S, Srichan R, Salee V.Cytotoxicity evaluation of dental Cement in dentine model. J Dent Assoc Thai 52:358-67, 2002.

15. Vajrabhaya L, Sangalungkan V, Kamolroongwarakul R, Apai W, Limmeechongchai S, Yingtanothai M. Five EDTA formulae in smear layer removal in canal instrumentation J Dent Assoc Thai 54:112-22, 2004.

16. Vajrabhaya L, Sangalungkan V, Wirabuud W.Effect of smear layer removal on apical microleakage. J Dent Assoc Thai 55 : 272-9,2005

17. Vajrabhaya L, Suwannawong SK., Srichan R, Salee W. Cytotoxicity evaluation of dental materials in perfusion condition. J Dent Assoc Thai 56 : 425-32,2006

18. Korsuwannawong S, Srichan R, Vajrabhaya L.Cytotoxicity evaluation of dentine bonding agents: agar overly technique. JDent Assoc Thai 58:196-203,2008

19. Pisalchaiyong N, Sutimantanakul S, Korsuwannawong S, Vajrabhaya L. Evaluating Cytotoxicity of Thai white Portland Cement in cell culture using MTT assy. Mahidol Dent J.30: 17-26, 2010

20. Vajrabhaya L, Thongsupan S, Runghirunskul S, Korsuwannnawong S. Development of simulated resin jaw in endodontic laboratory.J Dent Assoc Thai. 60:258-64,2010

21. Vajrabhaya L, Korsuwannawong S.The Correlation between Electronic and Radiographic Working Length Determination in Resin Model:a Laboratory Study. J Dent Assoc Thai 63:129-136,2013

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1 Vajrabhaya L, Sithisarn S, Wilairat P, Leelaphiwat S. : Comparison between Sulphorhodamine-B dye staining and 51 Cr-Release method on Cytotoxicity assay of endodontic sealers. J Endod 23:355-357, 1997.

2. Vajrabhaya L, Sithisarn S.: Multilayer and monolayer cell cultures in a cytotoxicity assay of root canal sealers. Int Endod J 30:141-144, 1997.

3. Vajrabhaya L, Tepmongkol P.: The accuracy of the Root ZX apex locator. Endod Dent Traumatol 13:180-182, 1997.

4. Vajrabhaya L, Vongphan N, K Suwannawong S, Hongskul P. The effect of refrigerated conditional medium on cell survivability in vitro. Dent Traumatol 19:41-44, 2003.

5. Vajrabhaya L, Pasasuk A, Harninattisai C.: Cytotoxicity Evaluation of Single Component \Dentin Bonding Systems. Oper Dent. 28:440-444,2003.

6. Vajrabhaya L, Suwannawong KS, Kamolroongwarakul R, Pewkieng L. Cytotoxicity evaluation of gutta-percha solvents: Chloroform and GP-solvent (limonene) Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol and Endod 98:756-9, 2004.

7. Vajrabhaya L, Korsuwannawong S, Jantarat J, Kore S. Biocompatibility of furcal perforation repair material using cell culture technique : Ketac Molar versus Pro Root MTA. Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 102: e 48- e 50, 2006

8. Vajrabhaya L, Korsuwannawong S, Schmalz G, Bosl C. The cytotoxicity of self-etching primer bonding agents in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 107:e86-e90, 2009

9. Korsuwannawong S,Srichan S ,Vajrabhaya L.Cytotoxicity evaluation of self-etching bonding agents in a cell culture perfusion condition .Eur J Dent. 6:408-414, 2012

10. Vajrabhaya L,Korsuwannawong S,Harnirattisai C,Teainchai C.Changes in the permeability and morphology of dentine surfaces after brushing with a Thai herbal toothpaste:a preliminary study. Eur J Dent 10:239-244, 2016

11.Vajrabhaya L, Korsuwannawong S. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using MTT and NRU assays. Eur J Dent 10:134-8, 2016.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ผลงานวิจัยที่ได้นาเสนอในการประชุมทางวิชาการในต่างประเทศ (โปรดระบุหัวข้อประชุม/สัมมนาและสถานที่)

The correlation between EAL and radiograph in resin model: A laboratory study. การประชุม South East Asia IADR ประเทศฮ่องกง

ผลงานวิจัยที่ได้รับรางวัล(โปรดระบุรางวัลที่ได้รับ)

Poster presentation เรื่อง Toxicity of ROCANAL 3 vs MU sealer on Balb/c mouse primary cell culture ในการประชุมวิชาการครบรอบ 25 ปี การก่อตั้งคณะทันตแพทยศาสตร์ มหิดล

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสาร(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์ด้วย)

1. Vajrabhaya L: The maxillary first premolar teeth with three canals: Report Of two cases. J Dent Assoc Thai 34: 22-8, 1987.
2. Vajrabhaya L: Failure of incomplete root canal filling in endodontic treatment M Dent J 4: 15-20, 1984.
3. Vajrabhaya L: N 2 J Dent Assoc Thai 34: 149-60, 1984.
4. Vajrabhaya L: Detecting the extra canal. M Dent J 4: 80-3, 1984.
5. Vajrabhaya L: Root canal filling by using injectable warm gutta-percha instrument. M Dent J 7: 24-32, 1987.
6. Vajrabhaya L. Fused tooth: Report of a case M Dent J 8: 73 – 8, 1988.
7. Vajrabhaya L. : A case report of root resorption treatment. J Dent Assoc Thai 39: 28 – 36,1989.
8. Vajrabhaya L.Nonsurgical endodontic treatment of a tooth with double dens in dente J Endod 15: 323-5, 1989

สาขาวิชาที่นักวิจัยเชี่ยวชาญ

_____วิทยาเอ็นโดดอนต์_____

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

คำนำหน้า ☐ นาย ☐ นาง ☐ นางสาว

ตำแหน่งทางวิชาการ ☐ ศ. ☑ รศ. ☐ ผศ. ☐ อื่นๆ _____

ชื่อผู้วิจัย _____วนิดา _____

นามสกุลผู้วิจัย ____แสงอลังการ_____

ชื่อภาษาอังกฤษ ___Assoc.Prof. Vanida _____

นามสกุลภาษาอังกฤษ __ Sangalungkarn _____

วัน/เดือน/ปี เกิด ____9 กุมภาพันธ์ 2495_____

ที่อยู่(บ้าน) __699/21 ถนนวงศ์สว่าง แขวงบางซื่อ เขตบางซื่อ_____

จังหวัด(บ้าน) _____ กรุงเทพมหานคร_____

รหัสไปรษณีย์(บ้าน) _____10800_____

โทรศัพท์(บ้าน) _____0-2587-7985_____

แฟ็กซ์(บ้าน) ___-_____

ที่อยู่(ที่ทำงาน) ____ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

จังหวัด(ที่ทางาน) _____กรุงเทพมหานคร_____

รหัสไปรษณีย์(ที่ทำงาน) _____10400_____

โทรศัพท์(ที่ทำงาน) ____0-2200-7834_____

แฟ็กซ์(ที่ทำงาน) _____02-200-7832_____

E-Mail Address : __vanidasang@hotmail.com _____

ปริญญาตรี

สาขา _____เภสัชศาสตร์_____

ปีที่จบ _____2518_____

สถาบัน _____คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

ประเทศ _____ไทย_____

ปริญญาโท

สาขา ____เภสัชศาสตร์_____

ปีที่จบ _____2531_____

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สถาบัน_____จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย_____

ประเทศ _____

ปริญญาเอก -

สาขา _____-_____

ปีที่จบ _____

สถาบัน _____

ประเทศ _____

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารภายในประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1. Vajrabhaya L, Sangalungkarn V, Wirabuud W. Effect of smear layer removal on apical microleakage. J Dent Assoc Thai. 2005; 55: 272-9.
2. Vajrabhaya L, Sangalungkarn V, Kamolroongwarakul R, Apai W, Limmeechongchai S, Yingtanothai M. Five EDTA formulae in smear layer removal in canal instrumentation. J Dent Assoc Thai. 2004; 54: 112-22.
3. Lempituksakul Y, Suchatlampong C, Sangalungkarn V, Surarit R, Suputtamongkol K. In vitro study of 25% aluminium sulfate on plasma protein precipitation, cytotoxicity and effect on detailed reproduction with an addition silicone impression material. M Dent J. 2010 Sep.-Dec.; 30:185-96
4. Sangalungkarn V, Tancharoen S, Thiradirok S, Jirajariyavej B, Krivapun P. The Comparative study of physical stability test of four experimental phosphoric acid etching gels and Scotchbond TM etching gel. M Dent J. 2004; 24 (1):29-33.

3. Tanchareon S , Sangalungkarn V, Apai W, Tainchai N. SEM study of the etching effect of two experimental phosphoric acid etching gels as compared to Scotchbond TM etching gel on human dentin. M Dent J. 2004; 24 (1):29-33.

4.Tanchareon S , Sangalungkarn V, Apai W, Jirajariyavej B. The comparative study of shear bond strength of two experimental phosphoric acid etching gels and Scotchbond TM etching gel on human dentin. M Dent J. 2004; 24 (1):43-50.

7. Sangalungkarn V, Apai W, Srionrod S. Fluoride varnish: an in vitro study on fluoride released from matrices. M Dent J 1996; 16(3): 147-151.
8. Sangalungkarn V, Apai W, Srionrod S. Development of fluoride gel : the study of gel bases properties. J Dent Assoc Thai. 1996; 46(5-6): 280-287.
9. Apai W, Sangalungkarn V, Moung-gad P. The production of oral fluoride solution: a study on stability of the product and the ingredients with effect on absorption of fluoride in white rat

small intestines. J Dent Assoc Thai. 1996; 46(5-6): 280-287.

10. Sangalungkarn V, Srisatjaluk R. The stability test of fluoride mouthwash formulation after addition of favoring agents. CU Dent J. 1994; 17(1): 45-55.

11. Sangalungkarn V, Prakongpan S, Mitrevej A. Fluoride varnish: the particle size of sodium fluoride and the matrices which held its stability. M Dent J. 1993; 13: 177-184.

12. Sangalungkarn V, Srionrod S. The stability testing of fluoride mouthwash formulation. CU Dent J. 1993; 16(3) : 221-228.

13. Sangalungkarn V, Srisatjaluk R. The study of preservative effectiveness in fluoride mouthwash formulation. CU Dent J. 1992; 15(3): 203-210.

14. Lempituksakul Y, Suchatlampong C, Sangalungkan V, Surarit R, Suputtamongkol K. In vitro study of 25% aluminium sulfate on plasma protein precipitation, cytotoxicity and effect on detailed reproduction with an addition silicone impression material. M Dent J. 2010 Sep.-Dec.;30:185-195

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1.Rattanasuwan K, Rassameemasmaug S, Sangalungkarn V, Komoltri C. Clinical effect of locally-delivered gel containing green tea extract as an adjunct in non-surgical periodontal treatment. Odontology. 2014:1-9 DOI 10.1007/s10266-014-0190-1.

2. Rassameemasmaung S, Phusudsawang P, Sangalungkarn V. Effect of green tea mouthwash on oral maloder. ISRN Prev Med. 2013:1-6 ID.975148

3. Chaichalotornkul S, Suvitayavat W, Sangalungkarn V, Nawa Y, Kikuchi K, Kawahara K, Saiwichai T, Narkpinit S, Singhasivanon P, Maruyama I, and Tancharoen S. Inhibition of HMGB1 translocation by green tea extract in rats exposed to environmental tobacco smoke. Environment Asia. 2012; 5(1):70-6.

4. Saiwichai T, Sangalangkarn V, Oyama Yoko, Chaichalotornkul S, Narkpinit S, Harnyuttanakorn P, Singhasivanon P, Maruyama I, Tancharoen S. Green tea extract supplement inhibition of HMGB1 release in rats exposed to cigarette smoke. Southeast Asian j trop med public health. 2010; 41(1): 250-8.

5. Tancharoen S, Matsuyama T, Abeyama K, Matsushita K, Kawahara K, Sangalungkarn V, Tokuda M, Hashiguchi T, Maruyama I, Izumi Y. The role of water channel aquaporin 3 in the mechanism of TNF-alpha-mediated proinflammatory events: Implication in periodontal inflammation. J Cell Physiol. 2008 Nov; 217(2):338-49.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ผลงานวิจัยที่ได้นาเสนอในการประชุมทางวิชาการภายในประเทศ(โปรดระบุหัวข้อประชุม/สัมมนาและสถานที่) _____-_____

ผลงานวิจัยที่ได้นาเสนอในการประชุมทางวิชาการในต่างประเทศ(โปรดระบุหัวข้อประชุม/สัมมนาและสถานที่)

_____

ผลงานวิจัยที่ได้รับรางวัล(โปรดระบุรางวัลที่ได้รับ)

_____

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสาร(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์ด้วย)

1. Sangalungkarn V. Antifungal in the treatment of oral candidiasis. J Oral Maxillofac Surg. 1993; 7(1): 26-36.
2. Sangalungkarn V. Macrolide antibiotics: Roxithromycin. J Oral Maxillofac Surg. 1992; 6(1): 38-45.
3. Sangalungkarn V. The decision to use metronidazole in dentistry. J Dent Assoc Thai. 1992; 42(2): 90-97.
5. Sangalungkarn V. Antifungal in the treatment of oral candidiasis. J Dent Assoc Thai. 1991; 41(3): 127-133.

สาขาวิชาที่นักวิจัยเชี่ยวชาญ

_____ Dental materials_____

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

คำนำหน้า ☐ นาย ☐ นาง ☐ นางสาว

ตำแหน่งทางวิชาการ ☐ ศ. ☑ รศ. ☐ ผศ. ☐ อื่นๆ _____

ชื่อผู้วิจัย _____รัชชพิน _____

นามสกุลผู้วิจัย ____เหล่าวานิช ศรีสัจจลักษณ์_____

ชื่อภาษาอังกฤษ ___Assoc.Prof. Ratchapin _____

นามสกุลภาษาอังกฤษ __ Laovanitch Srisatjaluk _____

วัน/เดือน/ปี เกิด ____ _____

ที่อยู่(บ้าน) __66/37 ซอยอาทรอุปถัมภ์ ถนนประชาราษฎร์ 1 เขตบางซื่อ แขวงบางซื่อ _____

จังหวัด(บ้าน) _____ กรุงเทพมหานคร_____

รหัสไปรษณีย์(บ้าน) _____10800_____

โทรศัพท์(บ้าน) _____02-912-6963 _____

แฟ็กซ์(บ้าน) ___-_____

ที่อยู่(ที่ทำงาน) ____ภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

จังหวัด(ที่ทางาน) _____กรุงเทพมหานคร_____

รหัสไปรษณีย์(ที่ทำงาน) _____10400_____

โทรศัพท์(ที่ทำงาน) ____0-2200-7849_____

แฟ็กซ์(ที่ทำงาน) _____02-200-7848_____

E-Mail Address : __ratchapin.sri@mahidol.ac.th_____

ปริญญาตรี

สาขา _____เทคนิคการแพทย์_____

ปีที่จบ _____2522_____

สถาบัน _____คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล_____

ประเทศ _____ไทย_____

ปริญญาโทสาขา ____จุลชีววิทยา_____

ปีที่จบ _____2539_____

สถาบัน_____มหาวิทยาลัยมหิดล_____

ประเทศ _____ไทย_____

ปริญญาเอก

สาขา _____ Microbiology and Immunology _____

ปีที่จบ _____2544_____

สถาบัน _____ School of Medicine, University of Louisville _____

ประเทศ _____ USA _____

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารภายในประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1. Jirathanyanatt T, Srisatjaluk R, Choenklang P. Bacterial leakage through double seal intermediate restorative materials. Mahidol Dent J. 2015; 35:291-8.
2. Yimfungfieng N, Srisatjaluk RL, Koohawayrojanapakorn S. Influential factors in students' decision making to enter dental professional at Mahidol University. Mahidol Dent J 2014; 34:330-7.
3. Thanasrisuebwong P, Kiattavorncharoen S, Srisatjaluk RL, Sanguansin S, Visuttiwattanakorn S, Effect of implant macro design on insertion torque pattern. Proceedings of the 2nd ASEAN Plus Three Graduate Research Congress, 5-7 February 2014, Bangkok, Thailand.
4. Thawornrungroj S, Kuphasuk Y, Petmitr S, Srisatjaluk R, Kitkumthorn N. The application of Andrographis Paniculata gel as an adjunct in the treatment of chronic periodontitis: clinical and microbiological effects. Naresuan University J 2011; 9:1-11.
5. สวรส อยู่ยืน รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากของยาทรีมิกซ์และยาทรีมิกซ์ดัดแปลง ว ทันต มหิดล 2553; 30: 91-102.
6. **Srisatjaluk R.** Quorum sensing in periodontal pathogens. *Thai J Periodont* 2003-2004; 1: 75-85. (Thai)
7. **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์**, วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, เทอดพงษ์ ตรีรัตน์, วินัย ลีลาพฤทธิ์, ธนิยา หมวดเชียงคะ ผลของสารสกัดเหง้าข่า ใบชุมเห็ดเทศ และต้นทองพันชั่ง ต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ว ทันต มหิดล 2539; 16:67-74.

8. **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์**, วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, เทอดพงษ์ ตรีรัตน์, วินัย ลีลาพฤทธิ์, ธนิยา หมวดเชียงคะ ประสิทธิภาพของสารสกัดดอกกานพลูในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ว ทันต มหิดล 2539; 16:18-23.

9. **Srisatjaluk R.** Microbiological assays for the detection of periodontal pathogens. *J Dent Assoc Thai.* 1994; 44: 9-16. (Thai)

10. **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์**, วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์ การปนเปื้อนแบคทีเรียในอากาศระหว่างการปฏิบัติงานทันตกรรม ว ทันต มหิดล 2537; 14:134-40.

11. วนิดา แสงอลังการ, **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์** การทดสอบความคงสภาพเมื่อใช้สารปรุงแต่งในตำรับยาอมบ้วนปากฟลูออไรด์ ว ทันต จุฬา 2537; 17:45-55.

12. วรัท สุคนธปฏิภาค, ศุภชัย สุทธิมัณฑนกุล, **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์** ผลของน้ำยาที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวของแท่งกัตตาเปอร์ชา ว ทันต มหิดล 2537; 14:17-23.

13. วนิดา แสงอลังการ, **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์** การศึกษาประสิทธิภาพของสารกันบูดในตำรับยาอมบ้วนปากฟลูออไรด์ ว ทันต จุฬา 2535; 15:203-10.

14. วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, วินัย ลีลาพฤทธิ์, **รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์** การเป็นพาหะของแคนดิดาในช่องปากของหญิงตั้งครรภ์ ว ทันต 2534; 41:247-53.

15. **Srisatjaluk R,** Prachayabrued W. DNA probe for the identification of microorganisms in periodontal diseases. *J Dent Assoc Thai* 1992; 42: 153-62. (Thai)

16. วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, ยาหยีศรีเฉลิม ศิลปบรรเลง, **รัชชพิน เหล่าวานิช** ความชุกของแคนดิดาและการอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณใต้ฟันปลอมในผู้ที่ใส่ฟันปลอมทั้งปาก ว ทันต 2531; 38: 1001-10.

17. Brockelman CR, Tan-ariya P, **Laovanitch R.** Phenotypic and genotypic changes of *Plasmodium falciparum* cultured *in vitro*. Proceedings of Mahidol University seminar on malaria vaccine development. 17th-18th May 1988, Bangkok, Thailand, p. 37-44.

18. Tan-ariya P, **Laovanitch R,** Brockelman CR. *In vitro* studies on drug responsiveness heterogeneity in individual isolates of *Plasmodium falciparum*. *J Parasit Trop Med Assoc Thai* 1984; 7: 51-9.

19. Brockelman CR, **Laovanitch R,** Kaewkes S. Supportive effects of magnesium chloride on viability of *Plasmodium vivax in vitro*. *J Sci Assoc Thai* 1984; 10: 109-18.

20. วรลักษณ์ ปรัชญพฤทธิ์, พนิดา ชัยเนตร, มาลัย วรจิตร, อัญชลี เจนวรรธนะ, **รัชชพิน เหล่าวานิช,** เจือจันทร์ คงศักดิ์ ความสำคัญของแบคทีเรียแอนแอโรบส์ในการติดเชื้อในช่องปาก ว ทันต มหิดล 2527; 4: 87-98.

21. Brockelman CR, Tan-ariya P, **Laovanitch R.** Development of the *in vitro* microtest for drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: Influence of serum on drug sensitivity. Conference on malaria research. Malaria division, Thailand 1983: p. 55.

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศ(โปรดระบุวารสารที่ตีพิมพ์)

1. Arunakul M, Asvanund Y, Tantakul A, Mitrakul K, Srisatjaluk R, Vongsavan K. Effectiveness of an oral hygiene education program combined with fluoride mouthrinse among visually impaired students in Bangkok, Thailand. South Asian J Trop Med Public Health 2015; 46:354-9.

2. Mitrakul K, Srisatjaluk RL, Srisukh V, Vongsawan K. Efficacy of Citrus hystrix sprays in decontaminating Streptococcus mutans on children's toothbrushes. ScienceAsia 2015; 41:28-34

3. Lapirattanakul J, Nomura R, Matsumoto-Nakano M, Srisatjaluk R, Ooshima T, Nakano K. Variation of expression defects in cell surface 190-kDa protein antigen of Streptococcus mutans. Int J Med Microbiol. 2015;

4. Lapirattanakul J, Nakano K, Nomura R, Leelataweewud P, Chalermsarp N, Klaophimai A, Srisatjaluk R, Hamada S, Ooshima T. Multilocus sequence typing analysis of Streptococcus mutans strains with the cnm gene encoding a collagen-binding adhesin. J Med Microbiol 2011; 60: 1677-84.

5. Suwatanapongched P, Surarit R, Srisatjaluk R, Offenbacher S. Translocation of Porphyromonas gingivalis infected monocytes and associated cellular responses. Asian Pac J Allergy Immunol 2010; 28:192-9.

6. Nakano K, Nomura R, Taniguchi N, Lapirattanakul J, Kojima A, Naka S, Senawongse P, Srisatjaluk R, Gronroos L, Alaluusua S, Matsumoto M, Ooshima T. Molecular characterization of Streptococcus mutans strains containing the cnm gene encoding a collagen-binding adhesion. Arch Oral Biol 2010; 55: 34-9.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

7. Lapirattanakul J, Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Kojima A, Senawongse P, Srisatjaluk R, Ooshima T. Detection of serotype k Streptococcus mutans in Thai subjects. Oral Microbiol Immunol 2009; 24: 431-3.

8. Srisatjaluk R, Kotwal GJ, Hunt LA, Justus DE. Modulation of IFN-□-induced MHC class II gene expression by Porphyromonas gingivalis membrane vesicles. Infect Immun 2002; 70: 1185-92.

9. Smith SA, Mullin NP, Parkinson J, Shchelkunov SN, Totmenin AV, Loparev VN, Srisatjaluk R, Reynolds DN, Keeling KL, Justus DE, Barlow PN, Kotwal GJ. Conserved surface-exposed K/R-X-K/R motifs and net positive charge on poxvirus complement control proteins serve as putative heparin binding sites and contribute to inhibition of molecular interactions with human endothelial cells: a novel mechanism for evasion of host defense. J Virol 2000; 74: 5659-66.

10. Srisatjaluk R, Doyle RJ, Justus DE. Outer membrane vesicles of Porphyromonas gingivalis inhibit IFN-□-mediated MHC class II expression by human vascular endothelial cells. Microb Pathog 1999; 27: 81-91.

11. Zhou L, Srisatjaluk R, Justus DE, Doyle RJ. On the origin of membrane vesicles in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Lett 1998; 163: 223-8.

12. Reynolds DN, Keeling KL, Molestina R, Srisatjaluk R, Ehringer W, Justus DE, Kotwal GJ. Heparin binding activity of vaccinia virus protein confers additional properties of uptake by mast cells and attachment to endothelial cells. Advances in animal virology. Jameel, S. and Villarreal, L. (ed.) Science Publishers Inc. Enfield, 1998: p. 337-42.

13. Brockelman CR, Tan-ariya P, Laovanitch R. Observation on complete schizogony of Plasmodium vivax in vitro. J Protozool 1985; 32: 76-80.

14. Brockelman CR, Tan-ariya P, Laovanitch R, Baidikul V. Plasmodium falciparum in continuous culture: Initiation of new culture lines with special emphasis on in vitro gametocytogenesis. In

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Mak, J.W. and Young, H.S. (ed.) Immunology of tropical parasitic infections in Asia and Pacific region. Kuala Lumpur, Malaysia, SEAMEO-TROMED-IMR. 1983: p. 147.

15. Tan-ariya P, Laovanitch R, Brockelman CR. The use of chloramphenicol in the continuous culture of Plasmodium falciparum. Southeast Asia J Trop Med Pub Hlth. 1983; 14: 256-66.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University