

### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีวิจัย

##### ประชากร (population)

ฟันทุกซี่ที่มีพ็อกเก็ตลึกเท่ากับหรือมากกว่า 4 มิลลิเมตรในช่องปากของผู้ป่วยโรคปริทันต์  
อักเสบในผู้ใหญ่

##### กลุ่มตัวอย่าง (sample)

ฟันที่เลือกจากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่ ตามข้อตกลงเบื้องต้น จำนวน 42 คน

##### วิธีการดำเนินการวิจัย

1. เตรียมกลุ่มตัวอย่าง และตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลอง โดยกำหนดตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลองหรือกลุ่มควบคุมต้องมีพ็อกเก็ตลึกเท่ากับหรือมากกว่า 4 มิลลิเมตรและมีอาการเลือดออกหลังจากใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์ เพียง 1 ตำแหน่ง ในแต่ละซี่ของช่องปาก รวมตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลอง หรือกลุ่มควบคุมมี 4 ตำแหน่ง

2. ตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลองของการวิจัย มี 2 กลุ่ม คือ

2.1 การใช้สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาณ 15 มิลลิตร ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต โดยใช้เวลาในการฉีดล้าง 5 นาที ต่อตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลอง เสริมการเกลารากฟันในโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่

2.2 การใช้สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต โดยใช้เวลาในการฉีดล้าง 5 นาที ต่อตำแหน่งของ ฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลอง เสริมการเกลารากฟันในโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่

3. ตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมของการวิจัย มี 2 กลุ่ม (Goodson, 1992) คือ

3.1 กลุ่มควบคุม (control) ได้แก่ การเกลารากฟันในโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่ อย่างเดียว

3.2 กลุ่มควบคุมที่ใช้สารลอก (vehicle control) ได้แก่ การใช้สารละลายสี ผสมอาหาร ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต โดยใช้เวลาในการฉีดล้าง 5 นาที ต่อ ตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม เสริมการเกลารากฟันโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่

4. เตรียมอุปกรณ์

4.1 ทำเกราะกำบังน้ำยา (shield) เป็นพลาสติกพิมพ์ปากอะคริลิก (acrylic) สีขาว

4.2 กรอบคัมที่ปลายเข็ม พร้อมมอเข็มให้เป็นมุม และกรอบากตำแหน่ง 3 มิลลิเมตรจากปลายเข็ม

5. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง โดยใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 2 มิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย Brain heart infusion agar 18.5 กรัม Agar granulated 500 มิลลิกรัม L-cystein-HCl.H<sub>2</sub>O 250 มิลลิกรัม น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลาย ใน Water bath ที่ 95 องศาเซลเซียส ใส่หลอดทดลองหลอดละ 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วย Autoclave

6. การเตรียมสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 และ ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยเตรียมจากผงเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์บริสุทธิ์ 750 มิลลิกรัม และ 1500 มิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียดไฟฟ้า พิกัด 110 กรัม (Sartorius®) แล้ว ใส่ผงเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์บริสุทธิ์ ที่ชั่งในหลอดแก้ว เติมน้ำกลั่นชนิดกลั่น 2 ครั้ง ปริมาณ 15 มิลลิลิตร เท่ากันทั้ง 2 หลอด ด้วยขวดตวงน้ำ (Oxford Dispenser Modell) ทำให้ผง

เตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์บริสุทธิ์ละลายด้วยเครื่องเขย่าผสม (Minishaker, IKA<sup>®</sup>) โดยตั้งความเร็วที่ 1200 รอบต่อนาที ใช้เวลา 1 นาทีสำหรับหลอดแก้วที่มีผงเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ 750 มิลลิกรัม หรือมีความเข้มข้นร้อยละ 5 และใช้เวลา 2 นาที สำหรับหลอดแก้วที่มีผงเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ 1500 มิลลิกรัม หรือมีความเข้มข้นร้อยละ 10 จะได้สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ ที่ไม่มีตะกอนของสารละลายตกค้าง วัดค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และความเข้มข้นร้อยละ 10 ได้เท่ากับ 2.42 และ 2.15 ตามลำดับ โดยเครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter ; Orion<sup>®</sup>)

ส่วนการเตรียมสารละลายสีผสมอาหาร โดยใช้สีผสมอาหารสีเหลืองเบอร์ 1 (ตาร์ตราซีน; Tartrazine) ขององค์การเภสัชกรรม 400 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นชนิดกลั่น 2 ครั้ง 1000 มิลลิลิตร จะได้สีของสารละลายใกล้เคียงกับสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ดังกล่าว

หลังจากนั้น ใช้กระบอกฉีดยาเทอรูโม ขนาด 20 มิลลิลิตร ดูดสารละลายดังกล่าวจากแก้วตวง พร้อมใส่เข็มที่หักมุม และปลายเข็มมน โดยใช้เข็มขนาด 23 สารละลายเหล่านี้ควรใช้ฉีดล้างในพ็อกเก็ตของผู้ป่วยภายใน 1 ชั่วโมง หลังจากเขย่าผสม มิฉะนั้น สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์จะเริ่มตกผลึก และค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย คือ 2.51 และ 2.25 ตามลำดับ

7. การใช้สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 และสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 รวมทั้งสารละลายสีผสมอาหาร ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต โดยสอดปลายเข็มลงไปต่ำกว่าขอบเหงือก 3 มิลลิเมตร ตามรอยบากที่เข็ม ใช้เวลาฉีดล้าง 5 นาที ต่อตำแหน่งของฟัน

8. เพราะก้ำบั้งสารละลายเป็นกรดพิมพ์ปากอะคริลิก จะป้องกันการปนเปื้อน (carry-over effect) ของสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ หรือสารละลายสีผสมอาหาร ไปสู่ตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลองหรือกลุ่มควบคุมอื่น โดยปิดบริเวณอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับ การฉีดล้างด้วยสารละลายแต่ละครั้ง แต่ตำแหน่งที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมที่ใช้วิธีรักษาดั้งเดิมจะปิดทับด้วยเกราะก้ำบั้งสารละลายตลอดเวลาที่ฉีดล้างสารละลายทั้ง 3 ชนิด โดยมีผงพิมพ์ปากอัลจินต (alginate) ใส่ในกรดพิมพ์ปาก

หลังฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต จะไม่ให้กลุ่มตัวอย่างบ้วนน้ำ รับประทานอาหาร หรือดื่มน้ำ เป็นเวลา 30 นาที และนับมาฉีดล้างสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ หรือสารละลายสีผสมอาหาร สัปดาห์ละครั้ง รวมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ติดต่อกัน

9. ตรวจลักษณะทางคลินิก ก่อนรักษาตามที่กำหนด ให้ลำดับการตรวจดังนี้ คือ การเก็บ เชื้อแบคทีเรีย อาการมีเลือดออก ความลึกของพ็อกเก็ต และดัชนีความจุลินทรีย์

10. เก็บเชื้อจากตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม หรือกลุ่มทดลอง ด้วยแท่งกระดาษ ชับ โดยสอดลงไปในพ็อกเก็ตจนรู้สึกต้านมือ หรือกระดาษชับงอ ทิ้งไว้ 60 วินาที แล้วนำไปใส่ใน อาหารเลี้ยงเชื้อ (transporting media) นำไปปั่นด้วยเครื่องสันสะเทือน เป็นเวลา 60 วินาที ที่ ความถี่สูงสุด เพื่อทำให้เชื้อกระจายตัว และนำตัวอย่างมาเตรียมในสไลด์นับจำนวนแบคทีเรีย (Bright line hemacytometer) เพื่อศึกษาปริมาณและสัดส่วนของแบคทีเรีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิด เฟส-คอนทราสต์ ให้เสร็จสิ้นใน 1 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่าง เพื่อป้องกันการเกาะกลุ่ม (clumping) และความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากการตายของเชื้อที่เคลื่อนที่ได้ (Listgarten และ Hellden, 1978)

11. การศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางคลินิกของอวัยวะปริทันต์ โดย

11.1 อาการเลือดออก โดยใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์ชนิด PCPUNC 15 ของ Hu Friedy สอดเข้าพ็อกเก็ตในตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลอง แล้วให้คะแนน ดังนี้

0 = ปกติ (ไม่มีเลือดออก)

1 = เลือดออกเป็นจุดภายใน 30 วินาทีหลังยกเครื่องมือออก

2 = เลือดออกเป็นจุดทันทีหลังยกเครื่องมือออก

3 = เลือดออกเต็มบริเวณที่สอดเครื่องมือหลังยกเครื่องมือออก

4 = เลือดไหลตลอดเวลานหลังยกเครื่องมือออก

11.2 ความลึกของพ็อกเก็ต โดยใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์ชนิด PCFUNG 15 ของ Hu Friedy สอดเข้าพ็อกเก็ตในตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลองวัด 3 ตำแหน่ง แล้วนำค่าที่ได้ มาหาค่าเฉลี่ยของตำแหน่งของฟันที่ใช้เป็นกลุ่มทดลองหรือกลุ่มควบคุม

11.3 ค่าดัชนีความจุลินทรีย์ โดยใช้น้ำยาอิริโทรซิน ย้อมฟันทั้งปาก และคำนวณค่าดัชนีความจุลินทรีย์เป็นร้อยละจากจำนวนด้านฟันที่ติดสีต่อด้านฟันทั้งหมด

12. ให้วิธีการรักษาตามวิธีที่กำหนด โดยจะขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันทั้งปาก รวมทั้งสอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปากอีกครั้ง ในสัปดาห์ที่ 1 ของการทดลองแต่ละครั้ง (สัปดาห์ที่ 0 สัปดาห์ที่ 14 สัปดาห์ที่ 28 และสัปดาห์ที่ 42) ส่วนการฉีดล้างภายในพ็อกเก็ตด้วยสารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ หรือสารละลายสึผสมอาหาร ในสัปดาห์ที่ 1-4 ของการทดลองแต่ละครั้งรวม 4 ครั้ง

13. กลุ่มตัวอย่างไม่บ้วนน้ำ ไม่รับประทานอาหาร และไม่ดื่มน้ำ ภายใน 30 นาที หลังจากใช้สารละลายฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต

14. หลังจากการฉีดล้างภายในพ็อกเก็ตครั้งสุดท้าย จะเว้นระยะการรักษาเป็นเวลา 10 สัปดาห์ จึงเริ่มทำการเก็บเชื้อแบคทีเรียแล้วตรวจลักษณะทางคลินิก และให้การรักษาตามวิธีดังกล่าวข้างต้นใหม่ ในสัปดาห์ที่ 14 สัปดาห์ที่ 28 และสัปดาห์ที่ 42 ของการทดลอง โดยใช้สารละลายเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ และสารละลายสึผสมอาหาร ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต และตรวจวัดผลทางจุลชีววิทยาและคลินิก

15. ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

11 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 มีนาคม 2541 ถึงวันที่ 31 มกราคม 2542

16. แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ

16.1 จัดเตรียมแผนงานโดยละเอียด

16.2 เตรียมกลุ่มตัวอย่าง

- 16.3 เตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย
- 16.4 ตรวจสอบลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางคลินิก
- 16.5 ให้วิธีการรักษาตามที่กำหนด
- 16.6 รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล
- 16.7 สรุปผลการศึกษา
- 16.8 ทำรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ (วิทยานิพนธ์)



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ขั้นตอนการวิจัย

คัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง ⇨	-3 เดือน	⇨	เกลารากฟัน, สอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปาก
ตรวจลักษณะทางคลินิก ⇨	สัปดาห์ที่ 0	⇨	เกลารากฟัน, สอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปาก ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต (สัปดาห์ที่ 0-3)
ตรวจลักษณะทางคลินิก ⇨	สัปดาห์ที่ 14	⇨	เกลารากฟัน, สอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปาก ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต (สัปดาห์ที่ 14-17)
ตรวจลักษณะทางคลินิก ⇨	สัปดาห์ที่ 28	⇨	เกลารากฟัน, สอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปาก ฉีดล้างภายในพ็อกเก็ต (สัปดาห์ที่ 28-31)
ตรวจลักษณะทางคลินิก ⇨	สัปดาห์ที่ 42	⇨	เกลารากฟัน, สอนวิธีการดูแลอนามัยในช่องปาก



## วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องอัลตราโซนิกขูดหินน้ำลาย (CAVITRON®) พร้อมหัวขูดพี 10 (P-10) (Dentsply International Inc., York, Pennsylvania, USA)
2. เครื่องมือขูดหินน้ำลายชนิดเกรซี่ เบอร์ 3/4, 7/8, 11/12, 13/14 (Hu-Friedy Mfg Co. Inc., Chicago, Illinois, USA)
3. เครื่องมือเอ็กซ์พลอเรอร์ EXD 11-12 (Hu-Friedy Mfg Co. Inc., Chicago, Illinois, USA)
4. เครื่องมือวัดปริทันต์หรือโพรบ (Periodontal probe) ชนิด PCPUNC 15 (Hu-Friedy Mfg Co. Inc., Chicago, Illinois, USA)
5. เครื่องมือที่ใช้เก็บตัวอย่างแบคทีเรียจากที่อกนกัด ประกอบด้วย ตะเกียงแอลกอฮอล์ แห่งกระดาษซับ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง
6. กล้องจุลทรรศน์ชนิดเฟส-คอนทราสต์ (BH2, Olympus America Inc., New York, USA)
7. สไลด์ที่ใช้นับจำนวนแบคทีเรียโดยใช้ Bright line hemacytometer (Hausser Scientific, Horsham, P. A., USA)
8. เครื่องปั่นสะเทือนในการกระจายแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Cyclo-mixer, Clay Adams, Becton, Dickinson and company, Parsippany, N. J., USA)
9. เครื่องนับจำนวนแบคทีเรีย (Laboratory DC Counter, Gemmy Ind. Corp.)
10. ผงเตตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ (BP 1993, Batch No. T 708412)



11. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด พิกัด 110 กรัม (Sartorius<sup>®</sup>) (Sartorius AG, Goettingen, Germany)
12. ขวดตวงน้ำ (Oxford Dispenser Modell) กำหนดที่ 7.5 มิลลิลิตร
13. หลอดแก้วพร้อมฝาปิดสำหรับใส่ผงเดตราซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ และน้ำกลั่น
14. แก้วตวง
15. เครื่องเขย่าผสม (Minishaker, IKA<sup>®</sup>) (IKA-Works, Inc., Wilmington, N C, USA)
16. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter; Orion<sup>®</sup>) (Orion Research Inc., Michigan, USA)
17. น้ำกลั่นชนิดกลั่น 2 ครั้ง จากภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
18. ผงสีผสมอาหาร สีเหลืองเบอร์ 1 (ตาร์ตราซีน ; Tartrazine)
19. กระบอกขีดยาเทรุโม (Terumo<sup>®</sup>) ขนาด 20 มิลลิลิตร
20. เข็มเบอร์ 23 (gauge 23) ที่ผ่านปลายให้มนและขอเป็นมุม รวมทั้งมีรอยบากจากปลายเข็มขึ้นมา 3 มิลลิเมตร
21. ส่วนน้ำและผงอะคริลิกสีขาวชนิดแข็งตัวได้เอง (Kerr Corporation, Romulus, Michigan, USA)

22. หัวกรอากเพชร เบอร์ 273 D (diamond disk)
23. หัวกรอคาร์ไบด์ (carbide bur)
24. หัวกรอกระดาษทราย (sand paper disk)
25. วัสดุพิมพ์ปากชนิดอัลจิเนต พร้อมถ้วยและพวยผสม
26. ยูนิตทำฟัน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย