บทบาทของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน

นางสาวพรทิพย์ แซ่อึ้ง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

Role of root canal cement on bacteria in root canal system

Miss Porntip Sae-ung

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Endodontics

Department of Operative Dentistry

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	บทบาทของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน
โดย	นางสาวพรทิพย์ แซ่อึ้ง
สาขาวิชา	วิทยาเอ็นโดดอนต์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ทันตแพทย์หญิง ดร.ปวีณา จิวัจฉรานุกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

……..รองคณบดีฝ่ายบริหาร
รักษาการแทนคณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. พิเชียร อังจันทร์เพ็ญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ขวัญตา จารุอำพรพรรณ)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ทันตแพทย์หญิง ดร.ปวีณา จิวัจฉรานุกูล)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์)

…… กรรมการ
(ทันตแพทย์ ดร. ไพโรจน์ หลินศุวนนท์)

…… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

พรทิพย์ แซ่อึ้ง : บทบาทของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน (Role of root canal cement on bacteria in root canal system) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ทญ.ดร.ปวีณา จิวัจฉรานุกูล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ.ทญ.ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์, 67 หน้า.

มีความเชื่อว่าการอุดคลองรากฟันมีบทบาทในการจัดการกับแบคทีเรีย ที่เกี่ยวข้องกับเอ็นโดดอนต์โดยการฝังกลบแบคทีเรียที่อยู่ในบริเวณที่เข้าไม่ถึงเช่น ในท่อเนื้อฟัน การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเอเอชพลัสซีเมนต์มีการไหลแผ่ที่ดีกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจะติดตามผลว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีความสามารถในการไหลแผ่ต่างกันนั้นจะสามารถยับยั้งแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันไม่ให้กลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้ต่างกันหรือไม่ โดยเตรียมชิ้นงานที่ทำให้ติดเชื้อ *Enterococcus faecalis* จากนั้นทำการขยายคลองรากฟันถึงขนาด 50 และกำจัดเสมียร์แลร์ ทำการอุดคลองรากฟันด้วยวัสดุอุดต่างๆดังนี้ กัตตาเปอร์ชาและเอเอชพลัส, กัตตาเปอร์ชาและซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล, กัตตาเปอร์ชาโดยไม่ใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน และกลุ่มสุดท้ายเคลือบผนังคลองรากฟันด้วยคอมโพสิทเหลว ต่อจากนั้นทำการรื้อกัตตาเปอร์ชาและซีเมนต์ที่เคลือบผนังคลองรากฟันออกและใส่อาหารเลี้ยงเชื้อเข้าไปแทนที่ ตรวจวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในคลองรากฟันเป็นระยะเวลา 30 วัน ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันสามารถกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้ โดยเอเอชพลัสมีจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล คือพบจำนวนชิ้นงานที่มีการเจริญของแบคทีเรียร้อยละ 30 และร้อยละ 70 ตามลำดับ เอเอชพลัสสามารถยับยั้งแบคทีเรียไม่ให้เจริญเติบโตในคลองรากฟันได้นานกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล อย่างไรก็ตามพบว่าซีเมนต์ทั้งสองชนิดไม่สามารถฝังแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันและป้องกันแบคทีเรียไม่ให้กลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้อย่างสมบูรณ์

ภาควิชา ...ทันตกรรมหัตถการ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา ...วิทยาเอ็นโดดอนต์..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์.....

ปีการศึกษา ...2554……. ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5276116332 : MAJOR ENDODONTICS

KEYWORDS : ROOT CANAL CEMENT, BACTERIA, DENTINAL TUBULES, *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

PORNTIP SAE-UNG : ROLE OF ROOT CANAL CEMENT ON BACTERIA IN ROOT CANAL SYSTEM. ADVISOR: PAVENA CHIVATXARANUKUL, Ph.D., CO-ADVISOR: PANIDA THANYASRISUNG, Ph.D., 67 pp.

Root canal filling materials are believed to play roles in managing endodontic bacteria by entombing them in inaccessible area such as dentinal tubules. Previous studies showed that flowability of AH plus were superior to Zinc oxide eugenol (ZOE) cement. The objective of this study was to determine the ability of root canal cements with different flowability to inhibit bacterial regrowth from dentinal tubules. Dentine cylinders were infected with *Enterococcus faecalis*. The samples were then instrumented upto size 50 file and the smear layer was removed. The samples were assigned into groups according to root filling materials: Gutta percha (GP) + AH plus, GP+ ZOE, GP without cement (Positive control) and Flowable composite (Negative control). GP and cement on the root canal walls were removed and BHI broth was placed in the root canal. Bacteria regrowth in the root canal was investigated for up to 30 days in culture. Results showed that bacteria in the dentinal tubules had potential to repopulate the root canal after obturation. The AH plus group had fewer samples with bacterial regrowth than the ZOE group at 30% and 70% respectively. The length of time before bacterial regrowth was also longer in AH plus than in ZOE group. Neither AH plus nor ZOE cements can completely entomb bacteria in the dentinal tubules and prevent them from repopulating the root canal.

Department : Operative Dentistry	Student's Signature .....
Field of Study : Endodontics	Advisor's Signature .....
Academic Year : 2011	Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ปวีณา จิวัจฉรานุกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และ อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมถึงอาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำด้านสถิติ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาจุลชีววิทยาและศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฏ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 3

คำถามการวิจัย..... 3

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

สมมติฐานการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

ข้อตกลงเบื้องต้น..... 4

คำสำคัญ..... 4

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... 4

ข้อจำกัดในการวิจัย..... 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5

วิธีดำเนินการวิจัย..... 5

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลงานวิจัย..... 6

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 7

แนวคิดและทฤษฎี..... 7

การติดเชื้อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน..... 7

ผลการทำความสะอาดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน..... 9

การอุดคลองรากฟัน..... 11

ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน..... 12

หน้า

ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน..... 13
การแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน……. 16

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 19
ประชากร……..... 19
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 19
วิธีการดำเนินการ..... 21
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 27
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 28
5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ..... 39
อภิปรายผลการวิจัย..... 39
สรุปผลการวิจัย..... 44
ข้อเสนอแนะ..... 44
รายการอ้างอิง..... 45
ภาคผนวก..... 55
ภาคผนวก ก. การศึกษานำร่องถึงการแทรกซึมของแบคทีเรียเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน. 56
ภาคผนวก ข. การศึกษานำร่องเพื่อตรวจสอบว่ามีแบคทีเรียหลงเหลือในคลองรากฟันหลังการทำความสะอาดคลองรากฟัน..... 57
ภาคผนวก ค. การศึกษานำร่องเพื่อตรวจสอบว่ามีซีเมนต์อุดคลองรากฟันหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันภายหลังการรื้อกัตตาเปอร์ชา..... 58
ภาคผนวก ง. แสดงการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* เปรียบเทียบสองสายพันธุ์……... 60
ภาคผนวก จ. แสดงวันที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในคลองรากฟันของทุกกลุ่มการทดลอง……... 61
ภาคผนวก ฉ. ผลวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มเอเอชพลัสและซียูซีลเลอร์..... 62

หน้า

ภาคผนวก ช. ผลวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มเอเอชพลัสและ positive control..... 63
ภาคผนวก ซ. ผลวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มซียูซีลเลอร์และ positive control..... 64
ภาคผนวก ฌ. ผลวิเคราะห์ความแตกต่างของระยะเวลาที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย..... 65
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 67

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงสรุปผลการศึกษาถึงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน.....	14
2	แสดงสรุปผลการศึกษาเกี่ยวกับการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน.....	17
3	แสดงจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรียและค่ามัธยฐาน ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟัน....	30

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงฟันที่มีความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน	8
2	แสดงแผนภาพสรุปขั้นตอนการทำงาน.....	22
3	แสดงการเตรียมชิ้นงาน.....	23
4	แสดงจำนวนชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย……	29
5	แสดงลักษณะของแถบซีเมนต์เอเอชพลัสที่มีลักษณะกลวง.....	32
6	แสดงลักษณะของแถบซีเมนต์เอเอชพลัสที่มีลักษณะเต็มแน่น.....	33
7	แสดงการกระจายตัวของแถบซีเมนต์ชนิดซียูซีลเลอร์.....	34
8	เปรียบเทียบลักษณะของซีเมนต์ทั้งสองชนิด.....	34
9	แสดงความลึกของแถบซีเมนต์ชนิดเอเอชพลัส.....	35
10	แสดงความลึกของแถบซีเมนต์ชนิดซียูซีลเลอร์.....	36
11	แสดงลักษณะของซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันและแบคทีเรียที่พบในท่อเนื้อฟัน.....	37
12	แสดงลักษณะของเอเอชพลัสที่มีการไหลแผ่ไปปิดทับแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน....	37
13	ลักษณะของตะกอนที่ปิดบังส่วนของท่อเนื้อฟัน……..	42
14	แสดงการแทรกซึมของ *Enterococcus faecalis* เข้าสู่ท่อเนื้อฟันเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด.....	56
15	แสดงการพบ *Enterococcus faecalis* หลงเหลือในท่อเนื้อฟันภายหลังการขยายคลองรากฟัน……..	57
16	แสดงการหลงเหลืออยู่ของเอเอชพลัสในท่อเนื้อฟันภายหลังทำการกำจัดกัตตาเปอร์ชาออกจากชิ้นฟัน.....	58
17	แสดงการหลงเหลืออยู่ของซียูซีลเลอร์ในท่อเนื้อฟันภายหลังทำการกำจัดกัตตาเปอร์ชาออกจากชิ้นฟัน.....	59
18	แสดงกราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* เปรียบเทียบสองสายพันธุ์.....	60

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟัน[1] ซึ่งการรักษาทางเอนโดดอนติกส์นั้นมุ่งเน้นที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียโดยการขยายคลองรากฟัน การใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และการใส่ยาในคลองรากฟันซึ่งแม้จะเป็นกระบวนการที่ช่วยลดจำนวนแบคทีเรียได้เป็นจำนวนมาก แต่ก็ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้[2, 3] สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องมาจากแบคทีเรียที่หลงเหลือเหล่านี้อยู่ในบริเวณที่เครื่องมือไม่สามารถทำการกำจัดได้ หรืออาจจะอยู่ในท่อเนื้อฟัน ทำให้การขยายคลองรากฟันไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปได้[4, 5] นอกจากนี้อาจเป็นเพราะมีแบคทีเรียบางชนิดที่ดื้อต่อยาที่ใส่ในคลองรากฟันด้วย[6]

การที่ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันอาจเป็นสาเหตุให้เกิดความล้มเหลวของการรักษาคลองรากฟันได้ โดยมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Enterococcus faecalis* สามารถมีชีวิตอยู่ในคลองรากฟันที่ได้รับการอุดคลองรากฟันไปแล้วโดยไม่ได้รับสารอาหารนานถึง 12 เดือนและเมื่อได้รับสารอาหารใหม่ก็สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้อีกครั้ง[7] แสดงให้เห็นว่าหากเกิดการรั่วซึมของสารอาหารไปยังตำแหน่งที่มีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ก็อาจทำให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ ในกรณีที่เกิดความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันพบว่ามีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่บริเวณซอกหลืบและท่อเนื้อฟัน[8] อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาใดที่ยืนยันได้ว่าแบคทีเรียที่หลงเหลือในท่อเนื้อฟันจะเป็นสาเหตุหนึ่งของความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันได้

แม้ว่ากระบวนการรักษาคลองรากฟันจะไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้ แต่การศึกษาในปัจจุบันพบว่าความสำเร็จของการรักษาคลองรากฟันที่มีการอักเสบรอบปลายรากฟันอยู่ที่ 82%[9] ซึ่งจัดว่าอัตราความสำเร็จนี้ค่อนข้างสูง สาเหตุที่ร่างกายสามารถซ่อมแซมการอักเสบรอบปลายรากฟันได้แม้จะยังมีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่อาจเกิดจากแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่มีปริมาณน้อยเกินกว่าจะทำให้เกิดโรคได้ และร่างกายมีระบบภูมคุ้มกันที่จะกำจัดแบคทีเรียและผลผลิตของแบคทีเรียซึ่งช่วยให้เกิดการหายของการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ โดยการอุดคลองรากฟันอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนช่วยควบคุมหรือลดปริมาณของแบคทีเรียเหล่านั้น

โดยทั่วไปการอุดคลองรากฟันจะใช้วัสดุร่วมกันสองชนิดคือ กัตตาเปอร์ชาและซีเมนต์อุดคลองรากฟัน เป็นที่ทราบกันดีว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันทำหน้าที่ในการช่วยเติมเต็มช่องว่างระหว่างวัสดุอุด

คลองรากฟันกับผนังคลองรากฟัน ซึ่งซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิดก็มีความสามารถในการไหลแผ่และแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้แตกต่างกัน เช่น ซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลจะมีความสามารถในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้น้อยกว่าซีเมนต์ชนิดอีพอกซีเรซิน เป็นต้น[10, 11] การที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้นั้น น่าจะมีข้อดีหลายประการ เช่น การเพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างเนื้อฟันและซีเมนต์อุดคลองรากฟันอาจช่วยเพิ่มความสามารถในการป้องกันการรั่วซึม, ช่วยเพิ่มการยึดติดระหว่างวัสดุอุดคลองรากฟันและเนื้อฟัน และ ช่วยในการควบคุมแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ได้โดย การฝังกลบแบคทีเรียที่ยังหลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟัน การทำให้แบคทีเรียไม่ให้มีพื้นที่ในการเจริญเติบโต และป้องกันไม่ให้แบคทีเรียได้รับสารอาหารในการแบ่งตัว[10] โดยบทบาทในการควบคุมแบคทีเรียนี้น่าจะเป็นการลดจำนวนแบคทีเรียซึ่งจะช่วยเพิ่มผลสำเร็จในการรักษาคลองรากฟันได้

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานหรือการศึกษาใดที่พิสูจน์ได้แน่ชัดว่าแบคทีเรียที่เข้าไปสู่ท่อเนื้อฟันแล้วจะสามารถกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้อีกหรือไม่ และการอุดคลองรากฟันจะสามารถฝังกลบและป้องกันไม่ให้แบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันและซอกหลืบต่างๆ ไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้อีก ซึ่งความสามารถในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันที่ต่างกันของซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิดนั้นน่าจะมีผลต่อการป้องกันการติดเชื้อซ้ำของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันและซอกหลืบต่างๆ จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่ต้องการศึกษาถึงความสามารถของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันในการกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟัน และผลของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีการไหลแผ่ต่างกันว่าจะสามารถยับยั้งแบคทีเรียไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันแตกต่างกันหรือไม่

คำถามงานวิจัย (Research Question)

1. แบคทีเรียในท่อเนื้อฟันสามารถกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้หรือไม่
2. การอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์ที่มีคุณสมบัติในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันต่างกัน จะสามารถขัดขวางแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้แตกต่างกันหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสามารถของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันในการกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟัน
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีคุณสมบัติในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันต่างกันในการปิดกั้นแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟัน

สมมติฐานงานวิจัย

1. แบคทีเรียในท่อเนื้อฟันสามารถกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันได้
2. การอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีคุณสมบัติในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันต่างกันจะมีผลในการขัดขวางแบคทีเรียไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ไม่แตกต่างกัน

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ ผลที่ได้เป็นแนวทางบ่งบอกถึงความสามารถของแบคทีเรียในการกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟัน และความสามารถของซีเมนต์อุดคลองรากฟันในการป้องกันแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันกลับเข้ามาเจริญในคลองรากฟัน อย่างไรก็ตาม การนำผลไปใช้ทางคลินิกนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่นที่อาจทำให้ผลแตกต่างไปจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ได้อาจไม่สามารถเป็นตัวแทนของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดอื่นที่ไม่ได้นำมาศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากซีเมนต์แต่ละชนิดอาจมีคุณสมบัติและส่วนประกอบที่แตกต่างกันไป

ข้อตกลงเบื้องต้น

ทันตแพทย์ผู้ปฏิบัติงานในการวิจัยครั้งนี้ได้รับการฝึกฝนจนมีความรู้และความชำนาญในการเตรียมชิ้นตัวอย่าง กระบวนการทดลอง การวัด และการใช้เครื่องมือต่างๆในการวิจัยได้เป็นอย่างดี และเป็นบุคคลเดียวกันตลอดการวิจัย

คำสำคัญ (Key Words)

Root canal cement, Bacteria, Dentinal tubules, *Enterococcus faecalis*

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

ชิ้นงาน หมายถึงชิ้นฟันที่เตรียมขึ้นจากการตัดรากฟันจนมีความสูง 5 มิลลิเมตร
ด้านบนของชิ้นงาน หมายถึงด้านที่อยู่ใกล้กับส่วนคอฟัน
ด้านล่างของชิ้นงาน หมายถึงด้านที่ใกล้กับส่วนปลายรากฟัน

ข้อจำกัดของการวิจัย

1. การทำวิจัยดังกล่าวเป็นการทดลองทางห้องปฏิบัติการซึ่งอาจมีข้อจำกัดในการจำลองสภาพจริงทางคลินิก แม้จะมีการกำจัดปัจจัยรบกวนและควบคุมปัจจัยที่อาจกระทบต่อผลการทดลองแล้วก็ตาม
2. ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้มีเพียงชนิดเดียวคือ *Enterococcus faecalis* ซึ่งอาจไม่สามารถจำลองสถานการณ์ในคลินิกที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในคลองรากฟันได้ แต่ก็เป็นตัวแทนของแบคทีเรียที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดี
3. การสร้างชิ้นงานที่มีเฉพาะซีเมนต์ในท่อเนื้อฟันอาจทำได้ยากและไม่มีลักษณะแบบนี้เกิดขึ้นจริงในทางคลินิก แต่ในการทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อควบคุมลักษณะของชิ้นงานให้มีลักษณะเดียวกันคือมีซีเมนต์อุดคลองรากฟันและแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน เพื่อที่จะศึกษาถึงผลของซีเมนต์ในท่อเนื้อฟันที่มีต่อการติดเชื้อซ้ำในคลองรากฟันจากแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความสามารถของแบคทีเรียที่อยู่ในท่อเนื้อฟันในการกลับเข้ามาเจริญเติบโตในคลองรากฟัน
2. เปรียบเทียบความสามารถของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีคุณสมบัติในการไหลแผ่ต่างกันว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียกลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ต่างกันหรือไม่
3. อาจเป็นอีกการศึกษาหนึ่งที่ช่วยอธิบายบทบาทของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียภายในคลองรากฟัน

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

เดือน,พ.ศ.	มิ.ย.53	ก.ค.53	ส.ค.53	ก.ย.53	ต.ค.53	พ.ย.53	ธ.ค.53	ม.ค.54	ก.พ.54	มี.ค.54	เม.ย.54	พ.ค.54	มิ.ย.54	ก.ค.54	ส.ค.54	ก.ย.54	ต.ค.54	พ.ย.54	ธ.ค.54	ม.ค.55	ก.พ.55	มี.ค.55	เม.ย.55	พ.ค.55
1. ขั้นเตรียมการวิจัย																								
ศึกษาข้อมูลและทบทวนวรรณกรรม																								
วางแผนและออกแบบการวิจัย																								
การศึกษาวิจัยนำร่อง																								
การจัดทำโครงร่างวิทยานิพนธ์																								
การนำเสนอโครงร่างวิทยานิพนธ์																								
2. ขั้นดำเนินการวิจัยและเก็บรวบรวมข้อมูล																								
3. ขั้นวิเคราะห์ข้อมูลและแปลผล																								
4. ขั้นรายงานผล																								
จัดทำรายงาน																								
นำเสนอผลการวิจัย																								

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

การศึกษานี้จะทำการศึกษาผลของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน ดังนั้นการทบทวนวรรณกรรมจะเป็นเรื่องเกี่ยวข้องกับ แบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน การอุดคลองรากฟัน และคุณสมบัติในด้านต่างๆของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน รวมไปถึงผลของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟัน

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

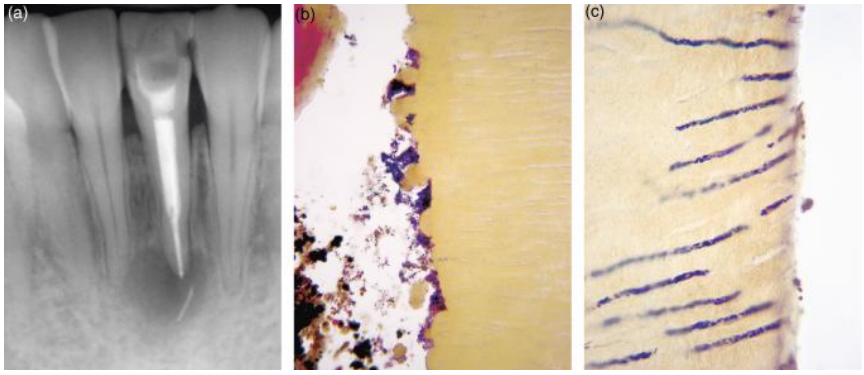
<u>การติดเชื้อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน</u>

การอักเสบรอบปลายรากฟันมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน[1] โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถเข้าสู่โพรงประสาทฟันได้เมื่อฟันมีการผุ มีรอยร้าว หรือมีการเผยผึ่งของท่อเนื้อฟันต่อช่องปาก โดยเมื่อมีทางให้แบคทีเรียเข้าสู่โพรงประสาทฟันก็จะเกิดการอักเสบในโพรงประสาทฟัน ถ้าหากฟันซี่นั้นไม่ได้รับการรักษาก็จะทำให้ฟันซี่นั้นตายและเกิดการติดเชื้อในคลองรากฟันที่จะนำไปสู่การอักเสบรอบปลายรากฟันในที่สุด โดยการติดเชื้อในคลองรากฟันเป็นการติดเชื้อร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิด เชื้อส่วนใหญ่ที่พบคือ แบคทีเรียกรัมลบที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Gram negative obligate anaerobic bacteria) ในขณะที่แบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น แบคทีเรียกรัมบวกที่ไม่ชอบออกซิเจน (Gram positive facultative anaerobic bacteria) ทั้งแบบกลมและแบบแท่งนั้นสามารถพบได้ในการติดเชื้อครั้งแรกของคลองรากฟันแต่พบได้ในปริมาณที่น้อยกว่าแบคทีเรียกรัมลบที่ทนออกซิเจนไม่ได้ (Gram negative obligate anaerobic bacteria) พบว่าเมื่อมีการติดเชื้อในโพรงประสาทฟันแบคทีเรียจะเกาะอยู่ตามผนังคลองรากฟัน ในซอกหลืบและสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ด้วย[12-14] แบคทีเรียที่พบว่าสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ ได้แก่

- แบคทีเรียกรัมบวกที่ไม่ชอบออกซิเจน (Gram positive facultative anaerobic bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. *Enterococcus* spp.[15-17] เป็นกลุ่มที่พบมากและมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย โดยมีการศึกษาในกาย (In vivo) ซึ่งพบว่าเป็นกลุ่มที่มีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้เป็นอย่างดี[12] และเป็นกลุ่มที่ได้รับความนิยมในการนำมาทำการทดลองเกี่ยวกับการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันของแบคทีเรียแบบนอกกาย (In vitro)

- แบคทีเรียกรัมลบที่ทนออกซิเจนไม่ได้ (Gram negative obligate anaerobic bacteria) ได้แก่ *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp. พบว่าสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้น้อย[18] แต่ก็ยังมีการทดลองในกาย (In vivo) ที่พบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในเนื้อฟันที่อยู่ลึกเข้าไปจากผนังคลองรากฟันได้[19]มีการศึกษานอกกาย (In vitro) พบว่าการที่แบคทีเรียกรัมลบ (Gram negative bacteria) เหล่านี้จะเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีต้องมีการติดเชื้อร่วมกับเชื้อจำพวก *Streptococcus* spp.[20]

เมื่อดูถึงการศึกษาเกี่ยวกับความลึกที่แบคทีเรียสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้นั้น พบว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้แตกต่างกัน มีการศึกษา ในกาย (In vivo) พบว่าแบคทีเรียอาจแทรกซึมได้ลึกถึง 375 ไมโครเมตร [19] บทบาทของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันต่อการเกิดความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันนั้นยังไม่มีการศึกษาที่ยืนยันได้แน่ชัดแต่พบว่ามีฟันเป็นจำนวนมากที่มีการรักษาคลองรากฟันที่ล้มเหลวนั้นสามารถพบแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้ นอกจากนี้การที่ซีเมนตัมบริเวณปลายรากฟันละลายไปจากการอักเสบรอบปลายรากฟันอาจเป็นปัจจัยเสริมให้แบคทีเรียในท่อเนื้อฟันแทรกซึมลึกเข้าสู่ท่อเนื้อฟันจนสามารถออกไปสู่เนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันและก่อให้เกิดการอักเสบมากยิ่งขึ้นอีก[21]



ก ข ค

ภาพที่1 (ก) แสดงฟันหน้าล่างที่มีความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน (ข) ภาพพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ (histopathology) ของปลายรากฟันซี่นี้พบว่ามีแบคทีเรีย (ย้อมติดสีน้ำเงิน) กระจายอยู่ตามผนังคลองรากฟันที่ไม่เรียบ และพบวัสดุอุดคลองรากฟันย้อมติดสีน้ำตาล (ค) แสดงภาพพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อของแบคทีเรียที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน

การศึกษาเกี่ยวกับการแทรกซึมของแบคทีเรียเข้าสู่ท่อเนื้อฟันส่วนใหญ่จะใช้ *Enterococcus faecalis* เป็นส่วนใหญ่เนื่องจากชนิดนี้สามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดี [15, 22] และเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในการรักษาคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลว [23-25] เหตุผลที่สนับสนุนว่าเชื้อชนิดนี้อาจมีบทบาทในกรณีของคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลวได้แก่ เชื้อชนิดนี้อาจหลบซ่อนอยู่ในท่อเนื้อฟันทำให้สามารถหลุดรอดจากกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันได้ พบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่หลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันสามารถอยู่ในสภาวะที่ไม่มีอาหารได้นานถึง 12 เดือน และเมื่อมีแหล่งอาหารเข้ามาเชื้อเหล่านี้ก็สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ [7] นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถเกิดการสร้างแผ่นคราบชีวภาพ (biofilm) บนเนื้อฟันและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้แม้จะไม่มีเชื้อชนิดอื่นร่วมด้วย [26, 27] การที่ *Enterococcus faecalis* สามารถทนทานต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้ก็อาจเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ทำให้มันสามารถหลุดรอดจากกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันได้[6, 15, 28] ในแง่ของความรุนแรงในการเกิดโรคพบว่า *Enterococcus faecalis* มักไม่ทำให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันที่รุนแรงนักเมื่อเทียบกับการติดเชื้อร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิด[29] แต่ถ้าหากมีการติดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่ใช้ออกซิเจนจะทำให้เชื้อเหล่านี้มีความทนทานต่อกระบวนการรักษาคลองรากฟันมากกว่าการติดเชื้อของแบคทีเรียเหล่านี้โดยไม่มี *Enterococcus faecalis*[30]

<u>ผลการทำความสะอาดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในระบบคลองรากฟัน</u>

การทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยการขยายคลองรากฟันและล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาที่มีฤทธิ์กำจัดแบคทีเรียสามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงได้เป็นจำนวนมากแต่ยังไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้[3, 6] โดยพบว่ายังคงมีเชื้ออยู่ภายในคลองรากฟันถึง 50% [31] มีการศึกษาพบว่าการทำความสะอาดคลองรากฟันที่มีลักษณะของคลองรากฟันที่ซับซ้อนน้อย ก็ยังมีพื้นผิวของเนื้อฟันกว่า 35% ที่ไม่ถูกทำความสะอาดด้วยเครื่องมือขยายคลองรากฟัน[32] นอกจากนี้การที่แบคทีเรียในคลองรากฟันอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นแผ่นคราบชีวภาพ (biofilm)[33] ซึ่งน้ำยาล้างคลองรากฟันอาจมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอที่จะกำจัดแบคทีเรียในแผ่นคราบชีวภาพนี้[34] ดังนั้นในบริเวณซอกหลืบที่เครื่องมือไม่สามารถเข้าไปทำความสะอาดได้ก็อาจยังคงเหลือแบคทีเรียอยู่ นอกจากบริเวณซอกหลืบยังสามารถพบแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันอีกด้วย โดยการศึกษาของ Berutti 1997[4] ทำการดูภาพทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อของฟันที่ผ่านการขยายคลองรากฟันและกำจัด

สเมียร์แลร์ (Smear layer) พบว่ายังมีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันซึ่งห่างจากผนังคลองรากฟันเข้าไป 300 ไมโครเมตร

เมื่อการขยายคลองรากฟันไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้ การใส่ยาในคลองรากฟันจึงเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่เชื่อว่าจะช่วยกำจัดแบคทีเรียในระบบคลองรากฟันได้ แต่จากการศึกษาเกี่ยวกับผลการกำจัดเชื้อของยาฆ่าเชื้อในคลองรากฟันของ Law และ Messer 2004 [35] พบว่าก่อนและทำการขยายและล้างคลองรากฟันพบเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันได้ 99% และ 62% (14-100%) ตามลำดับ เมื่อใส่ยาในคลองรากฟันแล้วแบคทีเรียมีการลดจำนวนลงอย่างมาก โดยหลังใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์พบเชื้อหลงเหลือในคลองรากฟัน 27%, ไอโอดีนโพแทสเซียมไอโอไดด์(iodine potassium ioidide) 34%-44%, ซีเอ็มซีพี (CMCP) 31%-33% และคลอเฮกซิดีน (Chlorhexidine) 22% ซึ่งจากการศึกษานี้แสดงให้ว่าการขยายและล้างคลองรากฟันอาจไม่เพียงพอที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์และการใส่ยาฆ่าเชื้อในคลองรากฟันไม่ว่าจะเป็นยาชนิดใดก็ยังไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในท่อเนื้อฟันได้ เช่น Estrela และคณะ 1999 [36] พบว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Psuedomonas aeruginosa* ในท่อเนื้อฟันได้

สาเหตุที่ทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการทนต่อสภาวะที่มีความเป็นด่างสูงของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Enterococcus faecalis, Enterococci* ทนอยู่ได้ใน pH 9-11[37] การที่แบคทีเรียเหล่านี้สามารถทนต่อสภาวะความเป็นด่างสูงได้เนื่องจากมีกลไกบางอย่าง เช่น การมีโปรตอนปั๊ม (specific proton pumps), และความสามารถในการบัฟเฟอร์ความเป็นด่าง ทำให้สามารถคงระดับความเป็นกรดด่างภายในเซลล์ไว้ได้

นอกจากนี้เนื้อฟันยังมีความสามารถในการบัฟเฟอร์ (buffering ability) ด้วย H_2PO_4- H_2CO_3 และ HCO_3^- ที่อยู่ในไฮเดรตแลร์ (hydrated layer) ของไฮดรอกซีอพาไทท์ (hydroxyapatite) เป็นตัวให้โปรตอน (protons) ทำให้ pH ของ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ลดลง[38] และอีกปัจจัยที่สำคัญ คือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถสัมผัสกับเชื้อได้โดยตรง เพราะแบคทีเรียมีการเกาะเรียงตัวกันเป็นสายลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันทำให้เชื้อที่อยู่ด้านในได้รับการปกป้องจากเชื้อที่อยู่ด้านนอก และเชื้อแบคทีเรียยังอาจอาศัยอยู่ในซอกหลืบของคลองรากฟัน ทำให้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ไม่สามารถเข้าไปออกฤทธิ์ได้

การอุดคลองรากฟัน

การรักษาคลองรากฟันมีจุดมุ่งหมายเพื่อกำจัดแบคทีเรียในคลองรากฟัน อันจะนำไปสู่การรักษาการอักเสบรอบปลายรากฟัน ซึ่งกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันจะสามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงได้เป็นจำนวนมากแต่ก็ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดจากคลองรากฟันได้[2, 3] ดังนั้นการอุดคลองรากฟันเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่จะช่วยลดโอกาสที่จะเกิดความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน โดยบทบาทของการอุดคลองรากฟันต่อการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลือในคลองรากฟันอาจเกิดจาก

1. แบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่อาจตายจากฤทธิ์กำจัดแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน
2. การอุดคลองรากฟันป้องกันแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ไม่ให้ได้รับสารอาหาร
3. วัสดุอุดคลองรากฟันปิดช่องว่างระหว่างผนังคลองรากฟันและวัสดุอุดคลองรากฟันทำให้แบคทีเรียไม่มีพื้นที่ที่จะเพิ่มจำนวนได้

มีการศึกษาพบว่าการอุดคลองรากฟันช่วยลดการอักเสบรอบปลายรากฟันได้แม้ว่าคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อนั้นจะไม่ได้ผ่านกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันมาก่อน[39] นอกจากนี้การอุดคลองรากฟันทำให้เกิดการหายของรอยโรครอบปลายรากฟันได้ดีกว่าในกรณีที่ไม่อุดคลองรากฟันอย่างมีนัยสำคัญ[40] และแม้ว่าวัสดุอุดคลองรากฟันจะไม่สามารถป้องกันแบคทีเรีย หรือน้ำลายไม่ให้แทรกซึมไปถึงปลายรากฟันได้ แต่ก็พบว่าวัสดุอุดคลองรากฟันยังสามารถยับยั้งการรั่วซึมของแบคทีเรียและน้ำลายได้ดีกว่าในกรณีที่ไม่มีวัสดุอุดคลองรากฟันเลย [41, 42] ทั้งหมดนี้เป็นการยืนยันถึงความสำคัญของขั้นตอนการอุดคลองรากฟันต่อการหายของการอักเสบรอบปลายรากฟัน

เมื่อขั้นตอนการอุดคลองรากฟันมีความสำคัญต่อการหายของการอักเสบรอบปลายรากฟัน คุณภาพของการอุดคลองรากฟันก็อาจเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง การอุดคลองรากฟันให้มีคุณภาพดีหมายถึงการอุดให้ไม่มีช่องว่างและอุดให้ได้ความยาว 0-2 มิลลิเมตรจากปลายรากฟัน ซึ่งการอุดคลองรากฟันที่มีคุณภาพดีน่าจะให้ผลการรักษาที่ดีกว่าการอุดคลองรากฟันที่มีคุณภาพไม่ดี แต่พบว่าผลการศึกษามีทั้งการอุดคลองรากฟันที่ดีและไม่ดีมีผลสำเร็จไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[9, 43, 44] และการศึกษาที่พบว่าการอุดคลองรากฟันที่ดีจะให้ผลสำเร็จที่ดีกว่าการอุดคลองรากฟันที่ไม่ดี[45, 46] เนื่องจากการที่มีการศึกษาที่ขัดแย้งกันจึงยังไม่สามารถสรุปผลการเปรียบเทียบทางคลินิกได้ แต่อย่างไรก็ดีพบว่าถ้าหากในคลองรากฟันนั้นไม่มีแบคทีเรียคุณภาพของวัสดุอุดไม่มีผลต่อการหายของรอยโรครอบปลายรากฟัน[47] ซึ่งได้กล่าวมาแล้วว่ากระบวนการรักษาคลองรากฟันในปัจจุบันไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปได้ ดังนั้นการอุดคลองรากฟันให้มีคุณภาพดีย่อมเป็นสิ่งจำเป็น

โดยสรุปการอุดคลองรากฟันที่จะช่วยลดปริมาณแบคทีเรียที่หลงเหลือจากกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันให้ลดลงอีก โดยมีบทบาททั้งในแง่กายภาพคือการที่วัสดุอุดไปเติมเต็มช่องว่างและปิดกั้นไม่ให้แบคทีเรียได้รับสารอาหาร และในแง่ชีวภาพจากการที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เมื่อมีแบคทีเรียเหลือปริมาณน้อย ภูมิคุ้มกันของร่างกายก็สามารถต่อสู้กับแบคทีเรียเหล่านั้นทำให้เกิดการหายของรอยโรครอบปลายรากฟันได้ในที่สุด

<u>ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน</u>

ซีเมนต์อุดคลองรากฟันเป็นส่วนสำคัญในการอุดคลองรากฟัน เนื่องจากเป็นส่วนที่จะช่วยเติมเต็มช่องว่างระหว่างวัสดุอุดคลองรากฟันกับคลองรากฟัน ซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีหลายชนิด ซึ่งแบ่งตามองค์ประกอบของซีเมนต์ดังนี้

1. ซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล (Zinc oxide eugenol cement) ได้แก่ กรอสแมนซีลเลอร์ (Grossman sealer), ทูบลิซีล (Tubliseal®), รอทซีลเลอร์ (Roth's sealer®), ซียูซีลเลอร์ (CU sealer®) เป็นซีเมนต์ที่มีการใช้มานานและพบว่าให้ผลสำเร็จของการรักษาที่ดี ข้อดีคือมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย[48, 49] สามารถละลายได้เมื่อมีการอุดเกินปลายรากฟัน มีเวลาในการแข็งตัวที่ช้า[50] เกิดการหดตัวระหว่างปฏิกิริยาการแข็งตัว และมีการละลายตัวสูง[51, 52]
2. ซีเมนต์ชนิดเรซิน ซึ่งแบ่งได้อีก 2 ประเภทคือ
    ก. อีพอกซีเรซิน ได้แก่ เอเอช26 (AH 26®) และ เอเอชพลัส (AH plus®) ให้ความแนบสนิทดีและยาวนาน มีการไหลแผ่ที่ดี ให้เสถียรภาพเชิงมิติที่ดี มีการหดตัวเมื่อเกิดปฏิกิริยาการแข็งตัวเล็กน้อย มีคุณสมบัติเป็นสารยึดติด มีความทึบรังสีสูง แต่มีการละลายตัวต่ำ
    ข. เมทาคริเลทเรซิน ได้แก่ เอ็นโดเรซ (Endorez®), เรียลซีล (Realseal®), อีพิฟานี (Epiphany®), และ เรียลซีลเอสอี (Realseal SE®) ข้อดีคือใช้งานง่ายเพราะใช้วิธีการฉีดเข้าไปในคลองรากฟัน ไม่รบกวนเนื้อเยื่อปกติ แนบสนิทกับคลองราก ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และเมื่อเกินออกไปนอกปลายรากสามารถกระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อแข็งได้ (Hard tissue formation)[53]
3. ซีเมนต์ชนิดซิลิโคน ได้แก่ โรอีโคซีล (Roekoseal®) และกัตตาโฟลว (Guttaflow®) วัสดุกลุ่มนี้ไหลแผ่ได้ดี ขยายตัวเล็กน้อยเมื่อแข็งตัว แนบสนิทกับผนังคลองรากฟัน [54] และมีค่าการละลายตัวต่ำมาก

4. ซีเมนต์ชนิดกลาสไอโอโนเมอร์ ได้แก่ คีแทคเอ็นโด (Ketac endo®) ปัจจุบันมีการพัฒนากัตตาเปอร์ชาที่เคลือบกลาสไอโอโนเมอร์ไว้ที่ผิวด้านนอก เพื่อนำมาใช้กับซีเมนต์ชนิดนี้ ชื่อ แอคทีฟจีพี (Activ GP®) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้เชื่อว่าสามารถยึดติดกับเนื้อฟันได้ แต่มีข้อเสียคือการรื้อเพื่อทำการรักษาคลองรากฟันซ้ำจะทำได้ยาก และมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียต่ำ [48]

5. ซีเมนต์ชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ได้แก่ ซีลเอเพกซ์ (Sealapex®), เอเพกซิท (Apexit®), ซีอาร์ซีเอส (CRCS®)ถูกผลิตขึ้นโดยเชื่อว่าจะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สามารถกระตุ้นการสร้างกระดูกและซีเมนตัมได้ แต่คุณสมบัติเหล่านี้จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อซีเมนต์มีการละลายตัวและแตกตัวเป็นแคลเซียมไอออน และไฮดรอกซิลไอออน แต่การที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันเกิดการละลายตัวย่อมทำให้เกิดการรั่วซึมของวัสดุอุดคลองรากฟัน ดังนั้นซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้จึงไม่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

ซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่เลือกใช้ในการศึกษานี้คือซียูซีลเลอร์ที่เป็นตัวแทนของซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล และเอเอชพลัสที่เป็นตัวแทนของซีเมนต์กลุ่มอีพอกซีเรซิน เนื่องจากซีเมนต์ทั้งสองชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้ในประเทศไทย โดยซียูซีลเลอร์เป็นซีเมนต์ที่คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยผลิตออกจัดจำหน่าย มีราคาไม่แพง โดยซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลเป็นซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีการใช้งานมานาน และมีผลสำเร็จของการรักษาที่ดี[55, 56] จึงเป็นที่นิยมใช้ในประเทศไทย ส่วนเอเอชพลัสเป็นซีเมนต์ที่จัดจำหน่ายโดยบริษัทเดนท์สพลายมีคุณสมบัติที่ดีกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลหลายประการ ได้แก่ การแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่า และการละลายตัวต่ำกว่า [57-59] ซึ่งจะสามารถป้องกันการรั่วซึมในระยะยาวได้ดีเนื่องจากซีเมนต์อุดคลองรากฟันไม่มีการละลายตัวไปเมื่อสัมผัสกับสิ่งซึมข้นจากเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน หรือน้ำลายที่อาจรั่วซึมมาจากส่วนของตัวฟัน

<u>ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน</u>

การที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียย่อมเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการกำจัดเชื้อในคลองรากฟัน โดยจะช่วยกำจัดแบคทีเรียที่หลงเหลือภายหลังกระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟัน ซึ่งอาจช่วยเพิ่มอัตราการประสบความสำเร็จในการรักษาคลองรากฟัน

มีการศึกษาถึงความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟันด้วยวิธีต่างๆ ดังที่กล่าวมา ในที่นี้จะขอกล่าวถึงความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟันสอง

ชนิดที่ใช้ในงานวิจัยคือ ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล และเอเอชพลัส โดยจะแสดงรายละเอียดของการศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์ในการกำจัดแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งสองชนิด ดังตารางที่1

ตารางที่ 1 แสดงสรุปผลการศึกษาถึงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

ชื่อ	ชนิดของซีเมนต์	วิธีการทดสอบ	แบคทีเรีย	เวลาที่ใช้สัมผัส	ผลการทดลอง
Zhang 2009[60]	AH plus Tubliseal	Direct contact	*E. faecalis*	1,3,7 วัน	Tubliseal = AHP
Neelakantan 2008[61]	AH plus Tubliseal	Agar diffusion	*E. faecalis* *C. albicans*	24,48,72 ชม. 5,7 วัน	Tubliseal > AHP (AHP ไม่มีฤทธิ์กำจัดเชื้อ)
Pizzo 2006[62]	AH plus Pulp canal sealer	Direct contact	*E. faecalis*	20 นาที, 24 ชม. 7 วัน	20 นาที: PCS=AHP 24 ชม.: PCS>AHP 7 วัน: PCS=AHP (ไม่มีฤทธิ์กำจัดเชื้อ)
Kayaoglu 2005[63]	AH plus Grossman	Direct contact	*E. faecalis*	24 ชม.	AHP > GM
Saleh 2004[64]	AH plus Grossman	Dentine block	*E. faecalis*	7 วัน	AHP = GM (กำจัดเชื้อหมด)
Gomes 2004[65]	AH plus Endofill	Direct contact	*E. faecalis* *C. albicans* *S. sanguis* *A. naeslundii*	Fresh, 24,48 ชม. 7 วัน	Endofill > AHP
Mickel 2003[49]	AH plus Roth's sealer Pulp canal sealer	Agar diffusion	*E.faecalis*	24, 48 ชม.	Roth > PCS>AHP (AHP ไม่มีฤทธิ์กำจัดเชื้อ)
Siqueira 2000[66]	AH plus Grossman Pulp canal sealer	Agar diffusion	*P. nigrescens* *P. gingivalis* *S. mitis* *S. bovis* *E. faecalis* *E. coli* *P. aeruginosa*	5 วัน	AHP=GM=PCS

จากการศึกษาที่แสดงในตารางพบว่าผลการเปรียบเทียบฤทธิ์การกำจัดแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน 2 ชนิดนี้มีความหลากหลายมาก โดยสรุปจากทุกการศึกษาจะเป็นไปในทางเดียวกันว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลจะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อไม่ว่าจะทดสอบด้วยวิธีใด เชื่อว่าองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อคือ ยูจีนอล

ส่วนเอเอชพลัสนั้นผลการศึกษาค่อนข้างหลากหลาย คือบางการศึกษาพบว่าเอเอชพลัสไม่มีความสามารถในการกำจัดแบคทีเรีย [49, 61] โดยการศึกษาที่ได้ผลเช่นนี้ทั้งสองการศึกษาใช้วิธี Agar diffusion ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ค่อยน่าเชื่อถือนัก ถ้าพิจารณาจากวิธีdirect contact ผลการศึกษาก็มีความหลากหลายโดยพบว่าฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อของเอเอชพลัสนั้นมีทั้ง มากกว่า น้อยกว่า และเท่ากับ ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล แต่จากการทดลองด้วยวิธี dentine block ซึ่งเป็นวิธีการที่ใกล้เคียงกับลักษณะทางคลินิกมากที่สุดก็พบว่าเอเอชพลัสและซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลมีความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้ดีเท่ากัน โดยไม่พบการเจริญของ *Enterococcus faecalis* ภายหลังการอุดคลองรากฟันเลย [64] จึงน่าจะสรุปผลได้ว่าเอเอชพลัสมีความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย โดยเชื่อว่าโมโนเมอร์ (Monomer) ของเอเอชพลัสอันได้แก่ อีพอกซีเรซิน (Epoxy resin) และ เอมีน (Amines) เป็นสารที่เป็นพิษต่อแบคทีเรีย เนื่องจากเอเอชพลัสเป็นซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่พัฒนาจาก เอเอช26 (AH 26) โดยมีการปลดปล่อยฟอร์มาลดีไฮด์น้อยลงมากเมื่อเทียบกับเอเอช 26 ดังนั้นฟอร์มาลดีไฮด์จึงไม่น่าเป็นสารสำคัญของเอเอชพลัสในการกำจัดแบคทีเรีย

แม้จะพบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย แต่ก็ยังพบว่าเมื่อทำการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้แม้จะผ่านไปนานถึง 12 เดือน แบคทีเรียชนิดนี้สามารถกลับมาเจริญได้อีกเมื่อได้รับสารอาหาร [7] นอกจากนี้พบว่าการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เมื่อแบคทีเรียเหล่านั้นได้รับสารอาหารจากปลายรากฟัน [67] แสดงให้เห็นว่าในสถานการณ์ทางคลินิกซีเมนต์อุดคลองรากฟันอาจไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากคลองรากฟันได้ เนื่องจากแบคทีเรียอาจหลบซ่อนตามซอกหลืบหรือลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันซึ่งซีเมนต์อุดคลองรากฟันอาจไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปลึกพอที่จะกำจัดได้ หรือซีเมนต์อุดคลองรากฟันเหล่านั้นอาจมีฤทธิ์แค่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียไม่ใช่ฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรีย หรือในอีกแง่หนึ่งอาจเป็นเพราะการอุดคลองรากฟันไม่สามารถปิดถมช่องว่างระหว่างคลองรากฟันกับวัสดุได้อย่างแนบสนิท เมื่อมีช่องว่างเพียงเล็กน้อยแบคทีเรียก็อาจได้รับสารอาหารและกลับมาเจริญเติบโตได้ใหม่

การแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน

ซีเมนต์อุดคลองรากฟันสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ โดยการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟันน่าจะแสดงถึงความสามารถของซีเมนต์ในการไหลแผ่เข้าไปเติมเต็มช่องว่างระหว่างวัสดุอุดคลองรากฟันกับผนังคลองรากฟัน โดย Mamootil & Messer 2007[10] เสนอประโยชน์ของการแทรกซึมของซีเมนต์เข้าสู่คลองรากฟัน ดังนี้

1. เพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างวัสดุกับเนื้อฟันซึ่งจะช่วยเพิ่มความแนบสนิทของวัสดุอุดคลองรากฟัน
2. เพิ่มการยึดอยู่ของวัสดุด้วยการยึดอยู่เชิงกล
3. ฝังกลบแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟัน

ซึ่งประโยชน์ทั้งสามข้อที่กล่าวมาก็เป็นเพียงข้อสันนิษฐานซึ่งยังไม่มีการพิสูจน์ว่าจะมีผลจริงในทางคลินิกหรือไม่ แต่ก็มีการศึกษาถึงการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันโดยใช้วิธีการศึกษาต่างๆกัน ได้แก่

- การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถเห็นความแนบสนิทระหว่างซีเมนต์และท่อเนื้อฟัน สามารถวัดความลึกของซีเมนต์ที่แทรกซึมได้อย่างแม่นยำ ข้อเสียคือให้รายละเอียดน้อยที่กำลังขยายต่ำและอาจเกิดความเสียหายต่อชิ้นงานในกระบวนการเตรียมชิ้นงานเพื่อไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้
- การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) มีข้อดีคือ สามารถวิเคราะห์การแทรกซึมของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้อย่างเป็นระบบเนื่องจากสามารถมองเห็นชิ้นงานได้ทั้งชิ้น ข้อเสียคือมีกำลังขยายต่ำไม่สามารถเห็นรายละเอียดของซีเมนต์กับท่อเนื้อฟันได้ การแยกซีเมนต์อุดคลองรากฟันกับเนื้อฟันจะทำได้ยากจำเป็นต้องอาศัยสีย้อมเพื่อให้เห็นความแตกต่าง
- การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้เลเซอร์ส่องกราด (confocal laser scanning microscope) ข้อดีของวิธีนี้คือไม่จำเป็นต้องทำการตัดชิ้นงานซึ่งอาจจะส่งผลต่อซีเมนต์ในท่อเนื้อฟัน การสำรวจชิ้นงานสามารถทำได้ในสภาพชิ้นงานที่ใกล้เคียงสภาวะปกติมากที่สุด สามารถมองเห็นรายละเอียดของซีเมนต์และท่อเนื้อฟันได้เนื่องจากปรับกำลังขยายได้สูง และสามารถมองชิ้นงานได้ที่ความลึกหลายระดับเนื่องจากสามารถปรับระดับโฟกัสที่ระดับต่างๆ ของชิ้นงานได้ ข้อเสียคือมีราคาแพง

มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการแรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน เช่น การกำจัดสเมียร์แลร์ โดยพบว่าการกำจัดสเมียร์แลร์จะทำให้ซีเมนต์สามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่าการไม่กำจัดสเมียร์แลร์อย่างมีนัยสำคัญ [11] ลักษณะและตำแหน่งของท่อเนื้อฟัน พบว่าท่อเนื้อฟันในส่วนต้นของคลองรากฟันจะมีขนาดใหญ่และมีจำนวนมากกว่าส่วนปลายของคลองรากฟัน [68, 69] ดังนั้นซีเมนต์อุดคลองรากฟันจะสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันในส่วนต้นของคลองรากฟันได้ลึกกว่าและมีปริมาณการแทรกซึมของซีเมนต์มากกว่าส่วนปลายรากฟัน [70, 71] และปัจจัยที่สำคัญคือชนิดของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน ซึ่งความสามารถในการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันจะขึ้นกับความสามารถในการไหลแผ่ของซีเมนต์ชนิดนั้นๆ มีการศึกษาความสามารถในการแทรกซึมของซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลและซีเมนต์ชนิดอีพอกซีเรซิน ผลการศึกษาเป็นดังที่สรุปในตารางที่ 2

ตารางที่2 แสดงสรุปผลการศึกษาต่างๆ เกี่ยวกับการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน

ผู้วิจัย	**วิธีการศึกษา**	**การออกแบบการทดลอง**	**ชนิดของซีเมนต์**	**ค่าเฉลี่ยความลึกในการแทรกซึม (μm)**	**ความลึกสูงสุดในการแทรกซึม (μm)**
Vassiliadis 1994[72]	SEM	In vivo	ZOE	200	900
Kokkas 2004[11]	SEM	In vitro In vitro	ZOE Epoxy resin	18.9 54.6	21 59
Mamootil 2007[10]	SEM	In vitro In vitro In vivo	Epoxy resin ZOE Epoxy resin	1337 71 -	- - 1490
Patel 2007[73]	CLSM	In vitro	ZOE	190.88	142.25
Ordinola-Zapata 2009[71]	CLSM	In vitro	Epoxy resin	237.84	400.39

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบถึงความสามารถในการแทรกซึมเข้าสู่คลองรากฟันของซีเมนต์ทั้งสองชนิดที่ใช้ในการทดลองคือ ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์และกลุ่มอีพอกซีเรซิน พบว่าการศึกษาที่ทำการเปรียบเทียบซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งสองชนิดนี้โดยตรงคือการศึกษาของ Kokkas 2004[11] ที่ทำการวัดความลึกของซีเมนต์ที่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันภายหลังการกำจัดสเมียร์แลร์พบว่าเอเอชพลัสแทรกซึมได้ลึก 54.6 ไมโครเมตร ในขณะที่ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลแทรกซึมได้ลึก 18.9 ไมโครเมตรซึ่งเอเอชพลัสแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึกกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้พบว่าความลึกในการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันน้อยกว่าการศึกษาอื่นอาจเนื่องจากมีการใช้ Energy dispersive X-ray analysis ในการวัดความลึกของการแทรกซึมของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟัน ซึ่งการใช้เครื่องมือชนิดนี้ในการตรวจจับวัสดุที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันหรือวัสดุที่ผิวหยาบอาจทำให้ความแม่นยำลดลง และการศึกษาของ Mamootil & Messer 2007[10] ก็ให้ผลที่สอดคล้องกันคือ ซีเมนต์กลุ่มอีพอกซีเรซินแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึกกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

1. ประชากรเป้าหมาย: เนื้อฟันในส่วนรากฟัน
2. ประชากรตัวอย่าง: เนื้อฟันในส่วนรากฟันของฟันกรามน้อยรากเดียว
3. ตัวอย่าง: เนื้อฟันในส่วนรากฟันของฟันกรามน้อยรากเดียวของผู้ป่วยที่มีอายุไม่เกิน 25 ปี ที่มีการสร้างรากสมบูรณ์ ไม่มีรอยโรคฟันผุและวัสดุอุดฟัน
4. ตัวแปรในการทดลอง

    4.1 ตัวแปรอิสระ : ซีเมนต์อุดคลองรากฟันซียูซีลเลอร์ และเอเอชพลัส

    4.2 ตัวแปรตาม: การเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟัน

    4.3 ตัวแปรควบคุม: ขนาดคลองรากฟัน วิธีการขยายคลองรากฟัน ปริมาณน้ำยาล้างคลองรากฟัน วิธีการอุดคลองรากฟัน วิธีการรื้อวัสดุออกจากคลองรากฟัน ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. แบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* (erythromycin resistant strain, JH2-2 carrying plasmid pGh9:ISS1, derived from the parental strain JH2)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

    2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลว (Brain heart infusion broth)

    2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้น (Brain heart infusion agar)

3. ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

    3.1 ซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล (CU sealer, คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย ประเทศไทย)

    3.2 ซีเมนต์ชนิดอีพอกซีเรซิน (AH plus, Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Germany)

4. สารเคมี

4.1 ยาปฏิชีวนะอิริโทรมัยซินชนิดผง (Erythromycin, Delta lab, China)

4.2 โซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 2.5% (คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย ประเทศไทย)

4.3 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เข้มข้น 17% (คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย)

4.4 ทิงเจอร์ไอโอดีนเข้มข้น 1.5% (คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย ประเทศไทย)

4.5 แอลกอฮล์เข้มข้น 70%

4.6 น้ำกลั่น

4.7 สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์เข้มข้น 1%

5. วัสดุ

5.1 หลอดทดลอง

5.2 ไมโครปิเปต

5.3 ถาดเลี้ยงเซลล์ 96 ช่อง

5.4 โปรไฟล์ ขนาด 40, 50, 60 ความผาย 0.04 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)

5.5 หัวกรอเกตกลิดเดนดริล ขนาด 3,4,5,6 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)

5.6 เลนทูโรสไปรัลขนาด 40

5.7 หลอดพลาสติกความจุ 5 มิลลิลิตร

5.8 เข็มขนาด 30

5.9 แท่งกระดาษซับคลองรากฟันขนาดเล็ก,กลาง,ใหญ่

5.10 กัตตาเปอร์ชา (Hygienic Corp, Akron, OH, USA)

5.11 เควิท (3M ESPE, St. Paul, USA)

5.12 วัสดุเรซินคอมโพสิทชนิดไหลแผ่ได้ (Tetric® Flow, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein)

5.13 น้ำยาทาเล็บ

6. อุปกรณ์

3.1 เครื่องตัดฟันความเร็วต่ำ (ISOMET™ 1000, Buehler, USA)

3.2 ตู้อบเลี้ยงเชื้อ (Memmert, Germany)

3.3 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo spectronic genesys 20 ,USA)

3.4 เครื่องฉายแสง (Elipar Trilight, 3M, USA)

3.5 กล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (JSM-5410 LV, JEOL, Japan)

วิธีการดำเนินการ

<u>การเลือกฟันเพื่อใช้ในการทดลอง</u>

ใช้ฟันกรามน้อยแท้จำนวน 35 ซี่ จากผู้ป่วยที่มีอายุไม่เกิน 25 ปี ซึ่งทำการถอนด้วยเหตุผลทางทันตกรรมจัดฟันโดยกำหนดเกณฑ์ในการเลือกฟันดังนี้

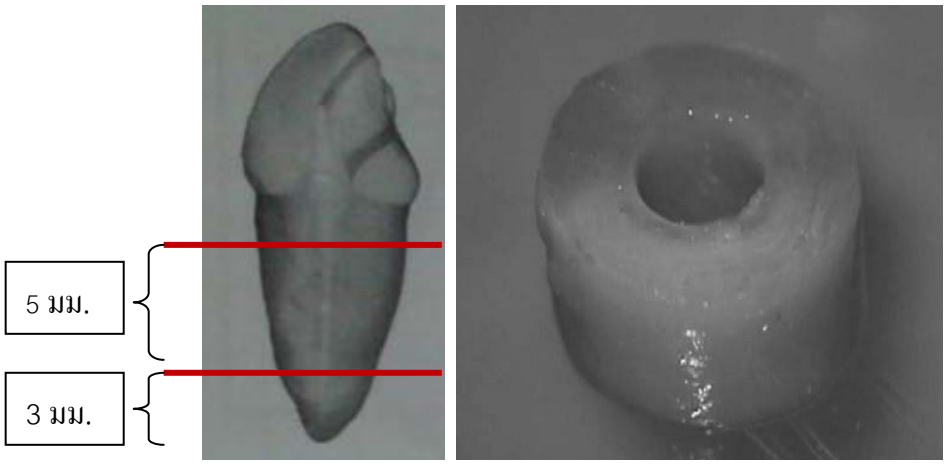
- มีรากเดียวและรากตรง
- มีการสร้างรากฟันสมบูรณ์
- ไม่มีรอยโรคฟันผุ และ/หรือวัสดุอุดฟัน

โดยฟันที่ได้นี้จะถูกแช่ในสารละลาย 0.1%Thymol จนกว่าจะเริ่มการทดลอง

ภาพที่ 2 แสดงแผนภาพสรุปขั้นตอนการทำงาน

การเตรียมชิ้นงาน

1. นำฟันกรามน้อยมาตัดตามภาพที่ 1 โดยตัดส่วนปลายรากฟันออก 3 มิลลิเมตร และตัดส่วนคอฟันและตัวฟันออก เพื่อให้ได้เนื้อฟันส่วนของรากฟันที่ความสูง 5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3)
2. ขยายคลองรากฟันด้วยโปรไฟล์ถึงขนาด 40 (ความผาย 0.04)
3. กำจัดสเมียร์แลร์ (smear layer) ด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ EDTA ความเข้มข้น 17% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นาน 3 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร
4. นำชิ้นงานที่เตรียมเสร็จแล้วไปฆ่าเชื้อโดยผ่านการฉายรังสีแกมมา 25 kGy
5. สุ่มชิ้นงานจำนวน 2 ชิ้นนำไปแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบว่ามีการเจริญของเชื้อหรือไม่ ถ้าหากอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะใสหลังเข้าตู้อบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงว่าฟันนั้นปลอดเชื้อและพร้อมที่จะนำไปทำการทดลองในขั้นต่อไป



ภาพที่ 3 แสดงการเตรียมชิ้นงานด้วยการตัดฟันในส่วนคอฟันและปลายรากฟันออก 3 มม.จนได้ชิ้นฟันในส่วนกลางฟันยาว 5 มม.

ชนิดของแบคทีเรีย และการเพาะเลี้ยงเชื้อให้เข้าสู่ท่อเนื้อฟัน

นำเชื้อ *Enterococcus faecalis* (erythromycin resistant strain, JH2-2 carrying plasmid pGh9:ISS1, derived from the parental strain JH2)[74] จากตู้ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส

มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวผสมอิริโทรมัยซินความเข้มข้น 6.5 µg/ml ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน แล้วนำเชื้อที่เพาะข้ามคืนนั้นมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวและปรับความขุ่นของเชื้อให้มีค่า optical density (OD) ที่ความยาวแสง 570 นาโนเมตร เท่ากับ 0.4 (ซึ่งมีเชื้อประมาณ $4.4x10^8$ CFU/ml) จากนั้นทำการแบ่งเชื้อใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร โดยแต่ละหลอดทดลองจะมีชิ้นงานที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วอยู่ 1 ชิ้น ใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสต่อเนื่องเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยในระหว่างนั้นจะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 2 วัน โดยดูดเอาอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อเจริญอยู่ (Culture media) ในแต่ละหลอดออกมา 4.5 มิลลิลิตร และใส่อาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตรเข้าไปแทน เมื่อครบระยะเวลา 4 สัปดาห์นำชิ้นงานที่แช่ไว้มาล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตรทั้งหมด 3 ครั้งก่อนนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

นอกจากนี้ทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่ถูกดูดออกมาจะถูกนำไปตรวจว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นหรือไม่ โดยการนำมากระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้นเพื่อดูลักษณะโคโลนีและทำการย้อมสีกรัมเพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย

<u>การทำความสะอาด และอุดคลองรากฟัน</u>

นำชิ้นงานที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อเข้าสู่ระบบคลองรากฟันมาทำการขยายคลองรากฟันด้วยโรตารีไฟล์ (โปรไฟล์ความผาย 0.04) จนถึงขนาด 50 ทำการล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตรตามด้วย EDTA ความเข้มข้น 17% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นาน 3 นาที และล้างคลองรากฟันอีกครั้งด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นาน 3 นาทีเพื่อกำจัดเสมียร์แลร์ ล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 30 มิลลิลิตร เพื่อกำจัดฤทธิ์ของน้ำยาล้างคลองรากฟัน ซับคลองรากฟันให้แห้ง หลังจากนั้นทำการแบ่งชิ้นงานออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มที่ใช้เอเอชพลัสในการอุดจำนวน 10 ซี่
2. กลุ่มที่ใช้ซียูซีลเลอร์ในการอุดจำนวน 10 ซี่
3. กลุ่มที่อุดด้วยกัตตาเปอร์ชาโดยไม่ใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟันจำนวน 5 ซี่ (Positive control)
4. กลุ่มที่ใช้คอมโพสิทเหลวเคลือบในผนังคลองรากฟันจำนวน 5 ซี่ (Negative control)

เพื่อเป็นการควบคุมการทดลองว่าในระหว่างขั้นตอนต่างๆจะไม่มีปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่น จะมีการเพิ่มกลุ่มควบคุมเทคนิคปลอดเชื้อ โดยใช้ฟันจำนวน 5 ซี่ที่ไม่มีการเพาะเชื้อเข้าสู่ระบบคลองรากฟัน และถูกอุดคลองรากฟันด้วยกัตตาเปอร์ชาโดยไม่ใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน (Sterile control)

กลุ่มที่ 1 และ 2 ใช้เลนทูโรสไปรัลนำซีเมนต์เข้าไปในคลองรากฟัน และอุดคลองรากฟันด้วยกัตตาเปอร์ชาที่มีขนาดพอดีกับส่วนปลายรากของชิ้นฟัน และทำการเติมกัตตาเปอร์ชาในส่วนต้นของชิ้นฟันให้เต็มโดยใช้วิธีการอุดคลองรากฟันแบบแผ่ข้าง (Lateral compaction)

กลุ่มที่ 3 ทำการอุดคลองรากฟันด้วยกัตตาเปอร์ชา โดยใช้การอุดคลองรากฟันแบบแผ่ข้างโดยไม่ใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

กลุ่มที่ 4 ทำการเคลือบผนังคลองรากฟันด้วยคอมโพสิทเหลวโดยทำการทาผนังคลองรากฟันด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 37% นาน 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซับผนังคลองรากฟันให้หมาด จากนั้นทาไพรเมอร์ และทำการเป่าให้เห็นเนื้อฟันมีลักษณะมันเงา (Glossy appearance) แล้วจึงทำการทาสารยึดติด (bonding agent) ฉายแสงสีฟ้านาน 20 วินาที ทำการใส่คอมโพสิทเหลวไปบนผนังคลองรากฟัน และทำการฉายแสงเป็นเวลา 40 วินาที

หลังจากอุดคลองรากฟันทำการปิดด้านบนและด้านล่างของชิ้นฟันด้วยเควิท (cavit) และเก็บฟันที่เตรียมนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในกล่องที่มีความชื้นนาน 7 วันเพื่อให้ซีเมนต์อุดคลองรากฟันเกิดการแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ เมื่อครบกำหนด 7 วัน นำชิ้นฟันมากำจัดเควิทออก และทำการกำจัดกัตตาเปอร์ชาและซีเมนต์ที่เคลือบผนังคลองรากฟันออกจากคลองรากฟันให้หมดโดยใช้โปรไฟล์ขนาด 60 (ความผาย 0.04) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อให้เหลือส่วนของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่แทรกซึมอยู่ในท่อเนื้อฟันเท่านั้น ทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 10 เท่าเพื่อให้แน่ใจว่าซีเมนต์ที่เคลือบผนังคลองรากฟันถูกกำจัดหมดแล้ว จากนั้นทำการล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตรตามด้วย EDTA ความเข้มข้น 17% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นาน 3 นาที และล้างคลองรากฟันอีกครั้งด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 2.5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเพื่อกำจัด เสมียร์แลร์ และล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 30 มิลลิลิตร และทำการปิดด่านล่างของชิ้นงานด้วยคอมโพสิทเหลว เพื่อให้ชิ้นงานมีลักษณะคล้ายแก้วน้ำเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

<u>การทดสอบการติดเชื้อซ้ำในคลองรากฟันจากแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน</u>

นำชิ้นงานที่ทำการเตรียมไว้ในขั้นตอนก่อนหน้านี้มายึดเข้ากับถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม เพื่อให้ชิ้นงานสามารถตั้งตรงได้ และเพื่อป้องกันการหกของอาหารเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟัน ทำการดูดอาหาร

เลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวผสมอิริโทรมัยซินปริมาตร 10 ไมโครลิตร เข้าไปในคลองรากฟันแต่ละซี่ นำชิ้นงานเก็บในภาชนะที่มีความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์และนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการตรวจดูว่ามีแบคทีเรียเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ไว้ในคลองรากฟันหรือไม่ โดยใช้กระดาษซับคลองรากฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อซับอาหารเลี้ยงเชื้อจากคลองรากฟันไปใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวผสมอิริโทรมัยซินปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำหลอดดังกล่าวไปทำการสั่นด้วยเครื่องสั่นเป็นเวลา 5 วินาที หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 72 ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยสังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อและทำการจดบันทึกว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อหรือไม่ โดยจะทำการตรวจเช่นนี้ทุกวัน เมื่อซับอาหารเลี้ยงเชื้อออกมาแล้วจะทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าไปแทนที่ และจะหยุดทำการตรวจการเจริญของเชื้อเมื่อพบว่าฟันซี่นั้นมีการเจริญของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ซึ่งตรวจสอบด้วยวิธีการย้อมสีกรัมและการดูโคโลนีของเชื้อ ถ้าไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อในคลองรากฟันจะทำการติดตามผลทุกวันเป็นเวลา 30 วันซึ่งเป็นการสิ้นสุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะนำชิ้นฟันไปผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นงานเพื่อดูด้วยกล้องอิเลกตรอนแบบส่องกราดโดยการแบ่งชิ้นฟันออกเป็น 2 ส่วนในแนวใกล้แก้มใกล้ลิ้นเพื่อดูลักษณะของซีเมนต์อุดคลองรากฟันและแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน ซึ่งจะแบ่งชิ้นงานเป็น 2 กลุ่มจากผลการทดลองคือ

1. กลุ่มที่พบว่ามีการเจริญของเชื้อในคลองรากฟัน นำชิ้นงานที่ถูกแบ่งทั้งสองส่วนไปวิเคราะห์ด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่งกราด
2. กลุ่มที่ไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อในคลองรากฟัน นำชิ้นงานที่ถูกแบ่งแล้วครึ่งหนึ่งไปวิเคราะห์ด้วยกล้องอิเลกตรอนแบบส่องกราด และอีกครึ่งหนึ่งไปทดสอบการมีชีวิตของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

<u>การเตรียมชิ้นงานและการวิเคราะห์ด้วยกล้องอิเลกตรอนแบบส่องกราด</u>

นำชิ้นงานที่ถูกแบ่งออกเป็นสองส่วนมาใส่ลงใน 2.5% กลูตาราลดีไฮด์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นทำการกำจัดน้ำออกจากชิ้นงานด้วยการแช่ชิ้นงานในแอลกอฮอล์โดยไล่ลำดับความเข้มข้นจากน้อยไปมาก แล้วจึงนำเข้าตู้อบแห้ง (Critical point dried) ทำการเคลือบทองบนผิวชิ้นงานด้านที่จะทำการวิเคราะห์ จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยจะทำการวิเคราะห์ในสองตำแหน่งคือส่วนที่เป็นหน้าตัดแนวขวางของท่อเนื้อฟัน และส่วนของผนังคลองรากฟัน โดยในส่วนที่เป็นแนวตัดขวางของท่อเนื้อฟันจะทำการวิเคราะห์เริ่มที่ตำแหน่งผนังคลองรากฟันโดยถ่ายภาพที่ระยะ 250 ไมโครเมตรจากผนังคลองรากฟัน ในส่วนของผนังคลองรากฟันจะทำ

การถ่ายภาพที่ตำแหน่งกึ่งกลางของชิ้นงาน ในแต่ละตำแหน่งจะทำการถ่ายภาพ 10 ภาพที่ไม่ซ้ำซ้อนกัน และนำมาวิเคราะห์ดูความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

<u>การทดสอบการมีชีวิตของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน</u>

เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่า *Enterococcus faecalis* ที่อยู่ในท่อเนื้อฟันยังมีชีวิตอยู่และยังสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อได้รับสารอาหาร ผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยนำชิ้นงานทั้ง 4 กลุ่มที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมาในการทดลองก่อนหน้านี้มาตรวจสอบความมีชีวิตและความสามารถในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน โดยใช้หัวกรอเกตกลิดเดนดริลขนาด 6 กรอเนื้อฟันทางด้านใกล้คลองรากฟันในชิ้นงาน เก็บผงเนื้อฟันที่กรอได้ไว้ในถาดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวผสม อิริโทรมัยซินปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในถาดและถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดเหลวที่มีผงเนื้อฟันใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 72 ชั่วโมง ถ้าหากหลอดใดที่ตรวจพบความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำการเพาะเชื้อลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชันชนิดวุ้นเพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ *Enterococcus faecalis* และตรวจสอบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้ออื่นหรือ ไม่

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบสถิติในการวิจัยครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป StatsDirect version 2.7.8 และกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติด้วยระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยประมวลผลข้อมูลที่ได้จากการศึกษาดังต่อไปนี้

1. ความแตกต่างของจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญเติบโตของ *Enterococcus faecalis* ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จะถูกวิเคราะห์ด้วยสถิติ Chi sqaure
2. ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่พบการเจริญเติบโตของ *Enterococcus faecalis* ในกลุ่มที่ 1,2 และ 3 จะถูกวิเคราะห์ด้วยสถิติ Kruskal- Wallis และทำการวิเคราะห์ถความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ Conover-Inman

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

1. การทดสอบการติดเชื้อซ้ำในคลองรากฟันจากแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

1.1 ผลการเปรียบเทียบจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟัน

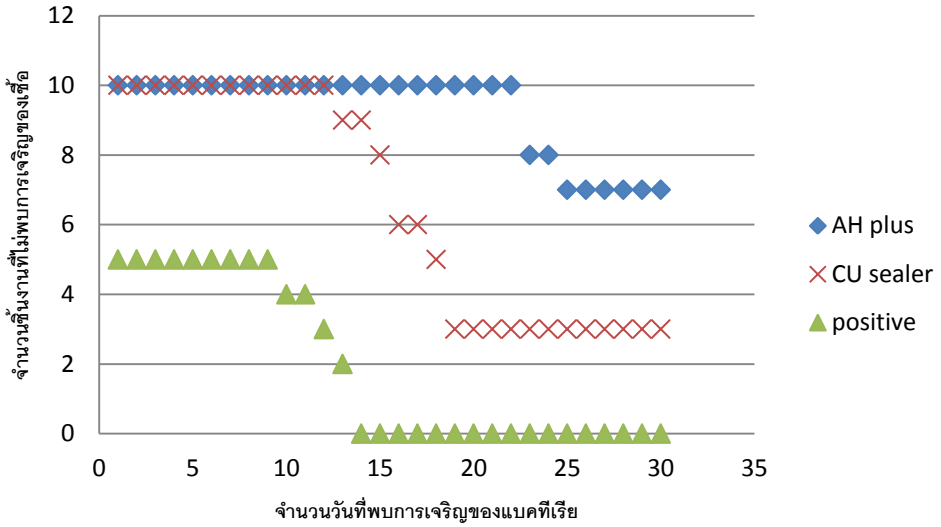
จากการสังเกตการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในคลองรากฟันโดยสังเกตจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ากลุ่มเอเอชพลัสพบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันใน 3 ชิ้นงานจาก 10 ชิ้นงาน ในขณะที่กลุ่มซียูซีลเลอร์พบการเจริญของแบคทีเรีย 7 ชิ้นงานจาก 10 ชิ้นงาน กลุ่มที่ไม่มีซีเมนต์ (Positive control) พบการเจริญของแบคทีเรียในทุกชิ้นงาน ส่วนกลุ่มที่เคลือบผนังคลองรากฟันด้วยวัสดุอุดคอมโพสิทเหลวและกลุ่ม sterile control ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียเลยจนสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 วัน

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์และเอเอชพลัสมีจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบด้วย Chi sqaure ($p > 0.05$) และพบว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์กับกลุ่ม positive control พบจำนวนชิ้นงานที่มีการเจริญของแบคทีเรียไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มเอเอชพลัสและ positive control ($p < 0.05$) (ตารางที่ 3) ทั้งนี้ผลการทดสอบทางสถิติได้ถูกแสดงในภาคผนวก ฉ,ช และซ

1.2 ระยะเวลาที่สามารถสังเกตเห็นการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟัน

ในกลุ่มเอเอชพลัสพบว่าชิ้นงาน 3 ชิ้นที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเมื่อดูจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่มเอเอชพลัสได้ตั้งแต่วันที่ 23-25 ของการทดลอง โดยค่ามัธยฐานของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียคือ 23 วัน ส่วนกลุ่มซียูซีลเลอร์ที่พบการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมด 7 ชิ้นงาน ตรวจพบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียตั้งแต่วันที่ 13-19 โดยมีค่ามัธยฐานคือ 16 วัน ในขณะที่กลุ่ม positive control พบการเจริญของแบคทีเรียได้ตั้งแต่วันที่ 10-14 และมีค่ามัธยฐานอยู่ที่ 13 วัน

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 กลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทำการทดสอบ Conover-Inman พบว่ากลุ่มเอเอชพลัสมีค่าเฉลี่ยของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์ และกลุ่ม positive control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$) ในขณะเดียวกันกลุ่มซียูซีลเลอร์ก็มีค่าเฉลี่ยของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่า positive control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p< 0.05$) (ตารางที่3)



ภาพที่ 4 แสดงจำนวนชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญในงแบคทีเรียของแต่ละกลุ่มการทดลองซึ่งจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป♦ คือเอเอชพลัส (n=10) เมื่อติดตามผล 30 วันเหลือชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ 7 ชิ้นงาน x คือ ซียูซีลเลอร์ (n=10) พบว่ามีชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ 3 ชิ้นงาน และ▲ คือกลุ่ม positive control (n=5) พบว่ามีการเจริญของเชื้อในทุกชิ้นงาน

ตารางที่ 3 แสดงร้อยละชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรียและค่ามัธยฐาน ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟัน (*, +, & แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม)

	ร้อยละของชิ้นงานที่พบการเจริญของแบคทีเรีย	ช่วงเวลาที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	มัธยฐานของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของวันที่พบการเจริญของแบคทีเรีย
AH plus (n=10)	30*	23-25	23	$23.67\pm1.95^{*\ \&}$
CU sealer (n=10)	70	13-19	16	$16.14\pm1.67^{*\ +}$
Positive control (n=5)	100*	10-14	13	$12.6\pm1.67^{+\ \&}$
Negative control (n=5)	0	-	-	-

2. สัณฐานวิทยาของแบคทีเรียและซีเมนต์อุดคลองรากฟันในท่อเนื้อฟัน

ในการดูลักษณะของชิ้นงานโดยใช้กล้องอิเล็กตรอนไมโครสโคป จะพิจารณาชิ้นงานโดยดูส่วนที่เป็นแนวตัดขวางของท่อเนื้อฟันและส่วนผนังคลองรากฟัน เมื่อพิจารณาในแนวตัดขวางของท่อเนื้อฟันพบว่าทั้งกลุ่มเอเอชพลัสและซียูซีลเลอร์มีแบคทีเรียกระจายอยู่ทั่วไปในท่อเนื้อฟันแบบไม่สม่ำเสมอ คือบางท่อเนื้อฟันมีแบคทีเรีย บางท่อเนื้อฟันก็ไม่มีแบคทีเรีย ปริมาณในท่อเนื้อฟันที่พบว่ามีแบคทีเรียนั้นมากน้อยแตกต่างกันไปในแต่ละชิ้นงาน ซึ่งการมองเห็นแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันอาจขึ้นกับระนาบของการตัดแบ่งชิ้นงานด้วย โดยในท่อเนื้อฟันที่พบแบคทีเรียนั้นจะพบในตำแหน่งที่ห่างจากผนังคลองรากฟันและมีลักษณะเป็นสายยาวเข้าไปในท่อเนื้อฟัน (ภาพที่ 11) นอกจากนี้ยังพบซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งเอเอชพลัสและซียูซีลเลอร์ในลักษณะที่กระจายอยู่ทั่วไปในท่อเนื้อฟันเช่นเดียวกับแบคทีเรีย โดยบางท่อเนื้อฟันก็พบทั้งแบคทีเรียและซีเมนต์อุดคลองรากฟัน บางท่อเน้อฟันพบแต่ซีเมนต์อุดคลอง

รากฟัน ไม่พบแบคทีเรีย และบางท่อเนื้อฟันก็พบแต่แบคทีเรีย ไม่พบซีเมนต์อุดคลองรากฟัน เมื่อพิจารณาบริเวณผนังคลองรากฟันเพื่อดูการกระจายตัวของแถบซีเมนต์อุดคลองรากฟันของทั้งสองกลุ่ม ก็พบว่ากระจายทั่วไปตามท่อเนื้อฟันแบบไม่สม่ำเสมอเช่นเดียวกับแบคทีเรีย กล่าวคือมีท่อเนื้อฟันบางตำแหน่งที่ไม่มีการแทรกซึมของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟัน แต่พบว่ากลุ่มเอเอชพลัสมีแถบซีเมนต์ที่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันเป็นจำนวนมากกว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์ (ภาพที่ 5,6 และ 7) อย่างไรก็ตามพบว่าลักษณะของแถบซีเมนต์ในทั้งสองกลุ่มยังมีลักษณะที่มีความแตกต่างกันดังนี้ คือ

<u>กลุ่มเอเอชพลัส</u>

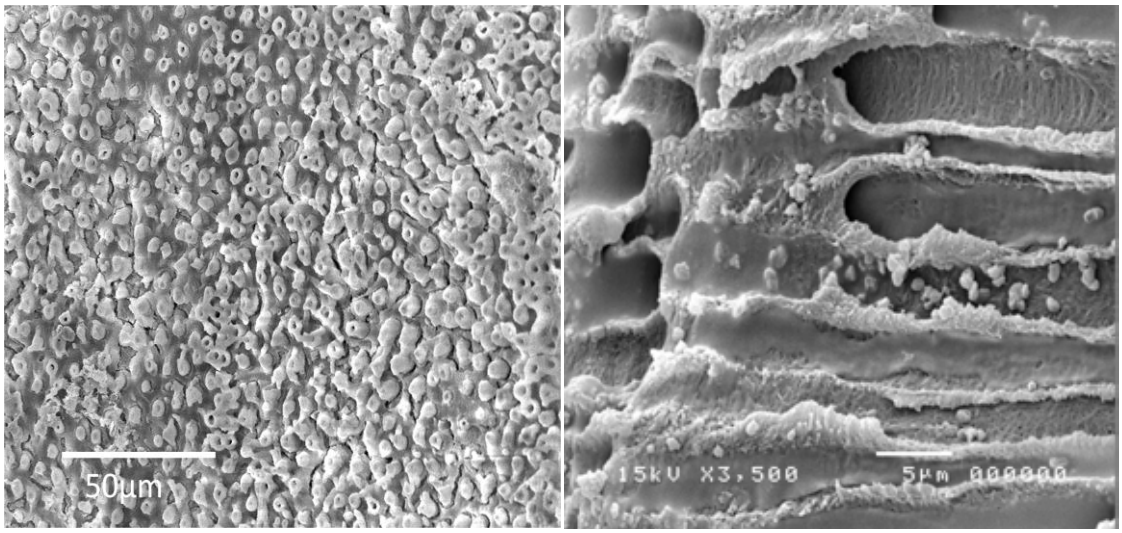
บริเวณผนังคลองรากฟัน จะสามารถเห็นการกระจายตัวของซีเมนต์อุดคลองรากฟันได้โดย พบว่าเอเอชพลัสสามารถกระจายตัวไปแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ค่อนข้างดี ลักษณะของซีเมนต์ในกลุ่มนี้จะเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่าซียูซีลเลอร์ โดยพบลักษณะของแถบซีเมนต์ได้ 2 แบบคือ แบบที่มีลักษณะกลวงตรงกลางแถบซีเมนต์ (ภาพที่ 5 ก) และแบบที่แถบซีเมนต์มีลักษณะเต็มแน่นไม่มีความกลวงตรงกลาง (ภาพที่ 6 ข) เมื่อดูแถบซีเมนต์ที่กำลังขยายสูงขึ้นพบว่าแถบซีเมนต์มีลักษณะเป็นแท่งที่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยพบว่ายังมีช่องว่างระหว่างแถบซีเมนต์และผนังท่อเนื้อฟันบ้าง (ภาพที่ 8 ก)

เมื่อพิจารณาแนวตัดขวางของท่อเนื้อฟันพบว่าเอเอชพลัสแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ค่อนข้างลึกซึ่งการถ่ายภาพที่ระยะ 250 ไมโครเมตรจากผนังคลองรากฟันก็ยังสามารถพบแถบซีเมนต์ของเอเอชพลัสได้ลึกถึงตำแหน่งนี้ (ภาพที่ 9) ลักษณะของแถบซีเมนต์จะเป็นเนื้อเดียวกันและมีความแนบสนิทกับท่อเนื้อฟันค่อนข้างมาก (ภาพที่ 11 ก) นอกจากนี้สามารถพบแบคทีเรียอยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันและพบว่าในบางตำแหน่งแบคทีเรียโดนฝังกลบอยู่ในแถบซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน โดยลักษณะของแถบซีเมนต์ที่เห็นเฉพาะส่วนที่เคลือบบนผนังท่อเนื้อฟันนี้อาจสอดคล้องกับแถบซีเมนต์ที่พบว่ามีลักษณะกลวงในส่วนกลางแถบซีเมนต์ เมื่อทำการผ่าแบ่งครึ่งท่อเนื้อฟันจึงสามารถมองเห็นแถบซีเมนต์ในลักษณะเช่นนี้ (ภาพที่ 5 ข)

<u>กลุ่มซียูซีลเลอร์</u>

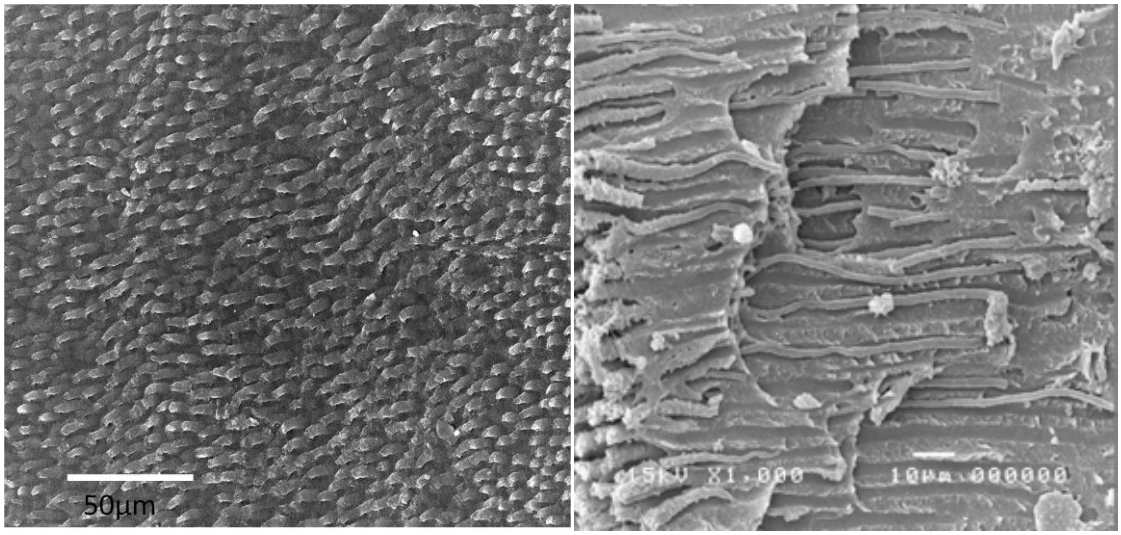
บริเวณผนังคลองรากฟันในกลุ่มซียูซีลเลอร์พบว่ามีซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีลักษณะเป็นเม็ดกระจายตัวอยู่บริเวณส่วนต้นของท่อเนื้อฟัน (ภาพที่ 7 ก) แต่ในบางตำแหน่งก็สามารถพบแถบซีเมนต์ที่มีลักษณะเป็นแท่งได้ (ภาพที่ 7 ข) ลักษณะของแถบซีเมนต์ทั้งสองแบบไม่แนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน โดยการกระจายตัวของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟันนั้นค่อนข้างน้อยกว่ากลุ่มเอเอชพลัส และเมื่อดูที่กำลังขยาย

สูงพบว่าแถบซีเมนต์มีลักษณะเหมือนเป็นเม็ดรวมตัวกันเป็นกลุ่มอยู่บริเวณปากทางเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน โดบกลุ่มซีเมนต์นี้ไม่มีความแนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน (ภาพที่ 8 ข) เมื่อพิจารณาแนวตัดขวางของท่อเนื้อฟันพบว่าแถบซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ตื้นๆ และในบางตำแหน่งไม่พบการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันเลย ในบริเวณเหล่านี้พบซีเมนต์เฉพาะบริเวณส่วนต้นของท่อเนื้อฟันเท่านั้น โดยแถบซีเมนต์เหล่านี้ไม่มีความแนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน (ภาพที่ 11 ข) เมื่อทำการวัดความลึกของแถบซีเมนต์ที่เข้าสู่ท่อเนื้อฟันพบว่าแถบซีเมนต์สามารถแทรกซึมเข้าไปได้ลึกที่สุดประมาณ 50 ไมโครเมตร โดยไม่พบว่ามีแถบซีเมนต์ของซียูซีลเลอร์สามารถแทรกซึมเข้าไปได้ลึกกว่านี้ (ภาพที่ 10) ลักษณะของซีเมนต์ในกลุ่มนี้จะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน บางตำแหน่งซีเมนต์จะมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆรวมกันเป็นก้อน ต่างจากกลุ่มเอเอชพลัส และโดยสามารถพบแบคทีเรียในตำแหน่งที่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันเช่นเดียวกับกลุ่มเอเอชพลัส แต่ไม่พบลักษณะที่ซีเมนต์ไหลแผ่ไปคลุมแบคทีเรียดังที่พบในกลุ่มเอเอชพลัส (ภาพที่ 11 ข)



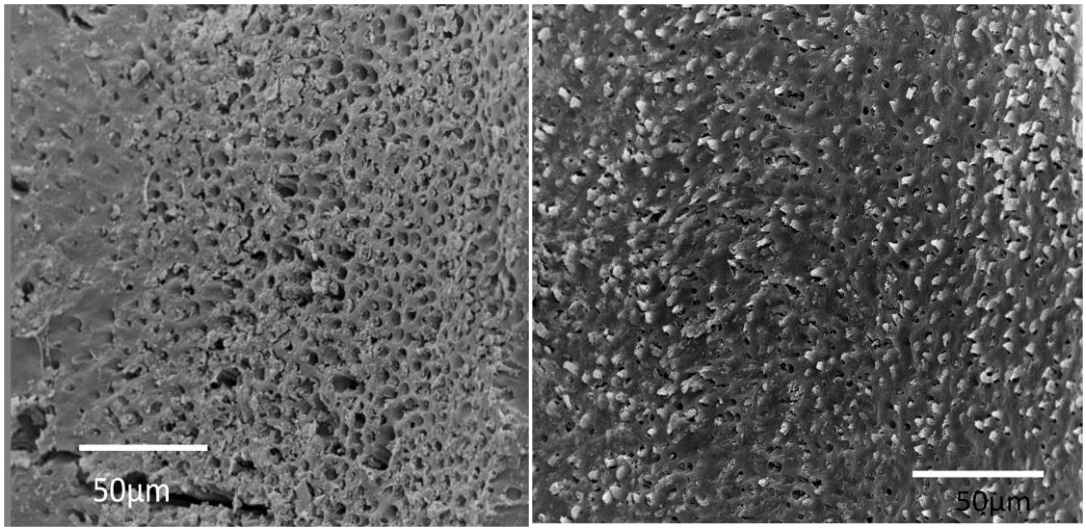
ก ข

ภาพที่ 5 ภาพ (ก) แสดงการกระจายตัวของซีเมนต์บนผนังคลองรากฟันของเอเอชพลัส จะพบซีเมนต์บางตำแหน่งที่มีลักษณะกลวงตรงกลาง ในขณะที่บางตำแหน่งซีเมนต์ก็มีลักษณะเต็มแน่น และพบว่าซีเมนต์มีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ค่อนข้างมาก (กำลังขยาย 500 เท่า) ภาพ (ข) แสดงเอเอชพลัสในแนวตัดขวางซึ่งอาจอาจเป็นแนวตัดขวางของซีเมนต์ที่มีลักษณะกลวง จึงสามารถมองเห็นแบคทีเรียที่โดนแถบซีเมนต์ไหลแผ่ไปปิดทับ (กำลังขยาย 3500 เท่า)



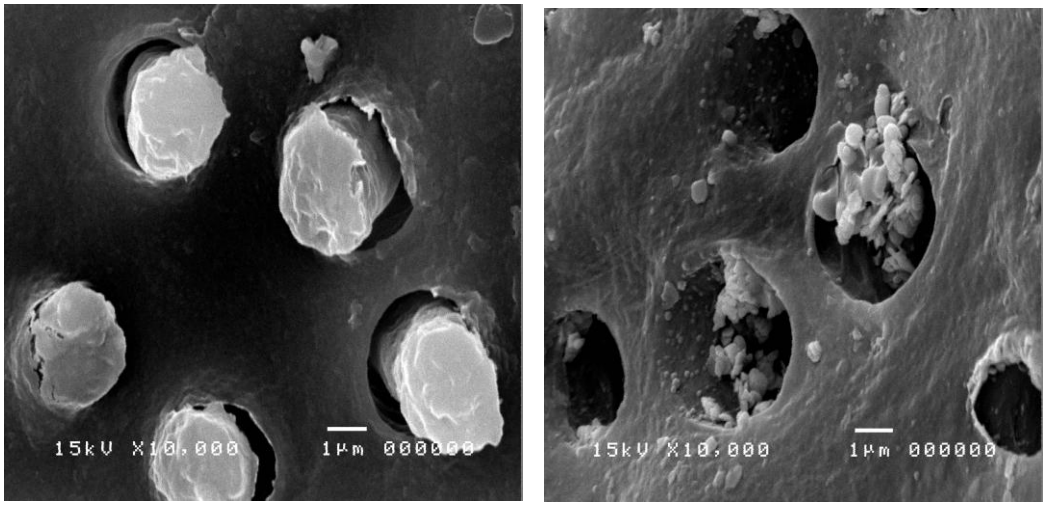
ก ข

ภาพที่ 6 ภาพ (ก) ภาพบนผนังคลองรากฟันแสดงการกระจายตัวของเอเอชพลัสที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันซึ่งมีลักษณะของแถบซีเมนต์ที่เต็มแน่น ไม่พบลักษณะกลวงตรงกลาง และมีการกระจายตัวของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้มาก (กำลังขยาย 500 เท่า) ภาพ (ข) แสดงภาพในแนวตัดขวางของเอเอชพลัสที่มีลักษณะของแถบซีเมนต์ที่เต็มแน่น ไม่มีลักษณะกลวงตรงกลาง จึงเห็นแถบซีเมนต์เป็นแท่งยาวเข้าไปในท่อเนื้อฟัน (กำลังขยาย 1000 เท่า)



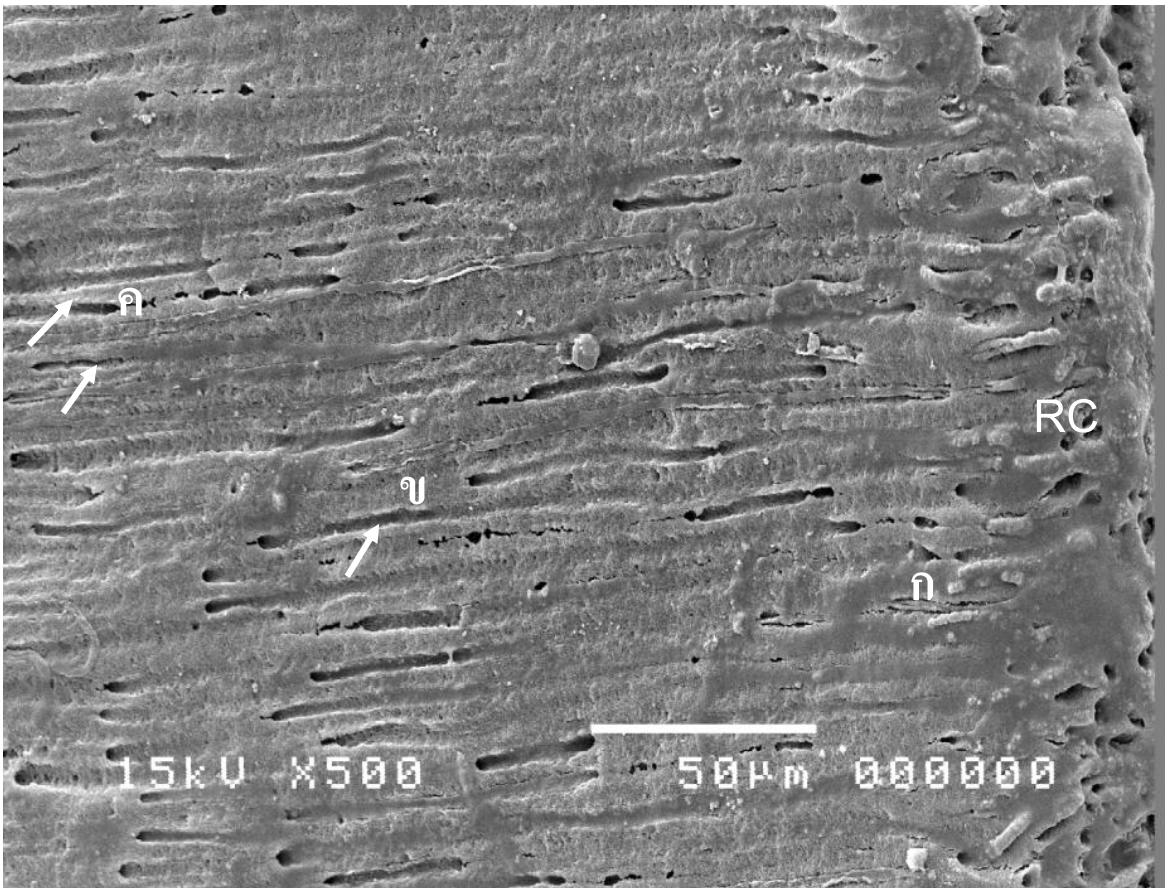
ก ข

ภาพที่ 7 ภาพบนผนังคลองรากฟันแสดงการกระจายตัวของซีย์ซีลเลอร์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันซึ่งมีลักษณะของแถบซีเมนต์ที่ไม่เต็มแน่นในท่อเนื้อฟันโดยแถบซีเมนต์จะกระจายเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้น้อย (กำลังขยาย 500 เท่า)

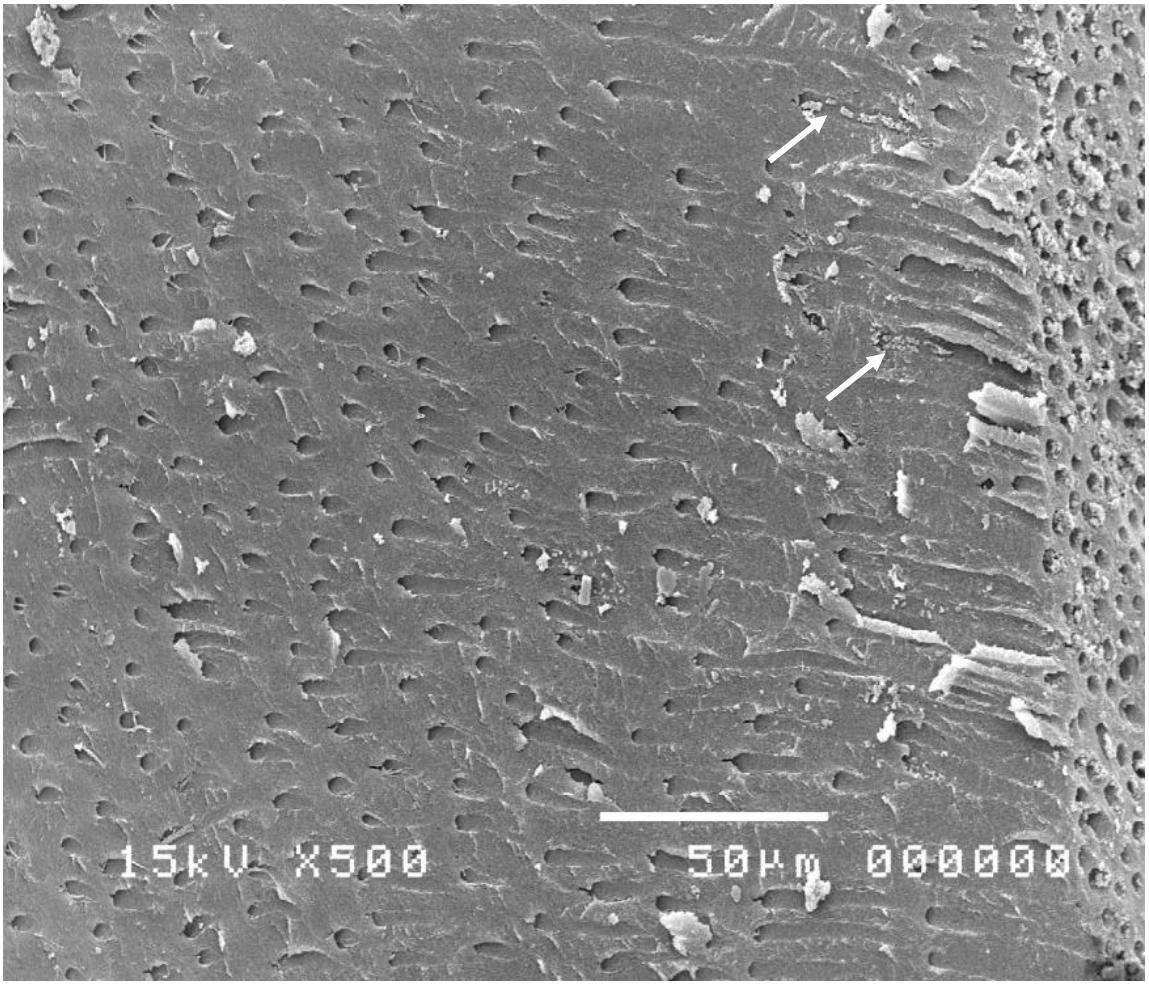


ก ข

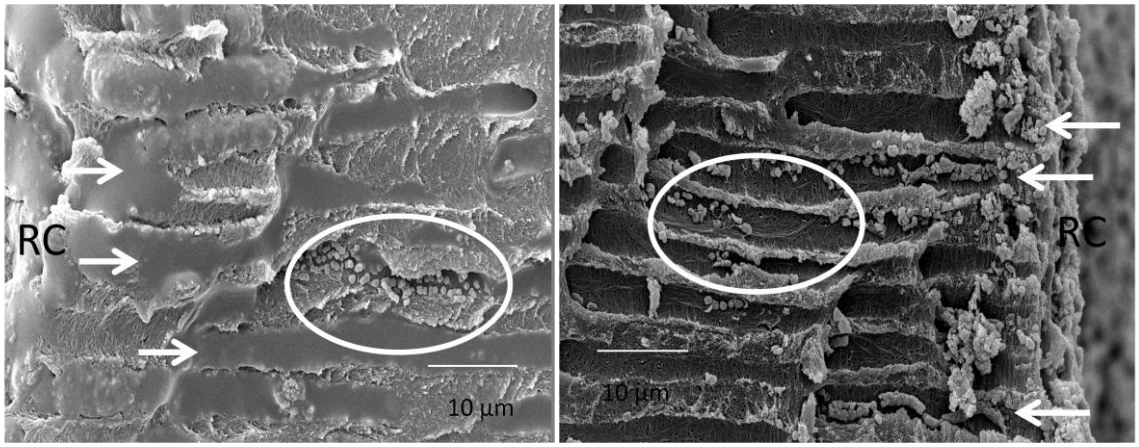
ภาพที่ 8 ภาพบริเวณผนังคลองรากฟันเปรียบเทียบลักษณะของแถบซีเมนต์ระหว่าง ภาพ (ก) เอเอชพลัส และ ภาพ (ข) ซีย์ซีลเลอร์โดยกลุ่มเอเอชพลัสมีลกษณะเป็นแถบซีเมนต์ที่เป็นเนื้อเดียวกันและเข้าไปในท่อเนื้อฟันมากกว่ากลุ่มซีย์ซีลเลอร์ แต่ก็พบว่าแถบซีเมนต์ยังไม่แนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน ส่วนลักษณะแถบซีเมนต์ของซีย์ซีลเลอร์จะเป็นก้อนซีเมนต์มารวมกันอยู่แค่บริเวณส่วนต้นของท่อเนื้อฟันและไม่แนบสนิทกับท่อเนื้อฟันมากกว่าเอเอชพลัส



ภาพที่ 9 แสดงความลึกของแถบซีเมนต์ชนิดเอเอชพลัสที่ระยะต่างๆ จากผนังคลองรากฟัน (RC) โดยในส่วนต้นของคลองรากฟันพบว่า มีจำนวนซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ค่อนข้างมาก (ตำแหน่ง ก) แต่ในตำแหน่งที่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันพบว่ามีปริมาณน้อยกว่าโดยพบว่าในท่อเนื้อฟันบางท่อก็ไม่มีซีเมนต์แทรกซึมลึกเข้ามาถึงส่วนกลางของท่อเนื้อฟัน (ตำแหน่ง ข) ในขณะที่ตำแหน่งที่ประมาณ 250 ไมโครเมตรจากผนังคลองรากฟันก็ยังพบแถบซีเมนต์ได้บ้าง (ตำแหน่ง ค)

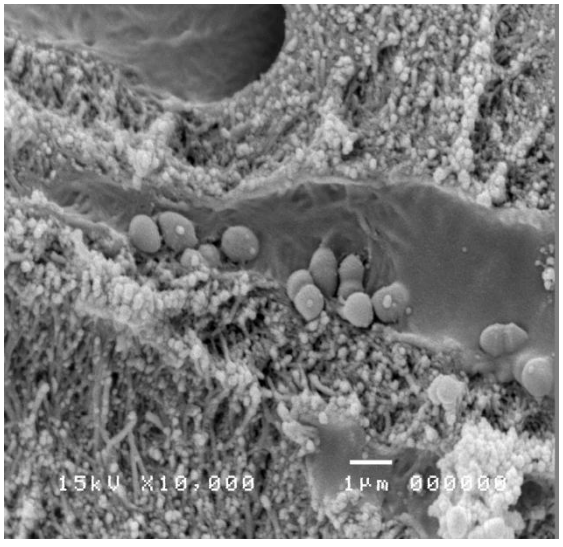


ภาพที่ 10 ภาพตัดขวางของท่อเนื้อฟันแสดงความลึกของแถบซีเมนต์ชนิดซียูซีลเลอร์ โดยจากภาพพบว่าแถบซีเมนต์เข้าไปได้ลึกที่สุด 50 ไมโครเมตร (ตำแหน่งที่ลูกศรชี้) ปริมาณซีเมนต์ที่บริเวณส่วนต้นของท่อเนื้อฟันมีปริมาณน้อย และเมื่อพิจารณาส่วนกลางของท่อเนื้อฟันไม่พบว่ามีแถบซีเมนต์เลย



ก ข

ภาพที่ 11 ภาพตัดขวางของท่อเนื้อฟันเปรียบเทียบลักษณะของซีเมนต์ทั้งสองชนิดที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันและแบคทีเรียที่พบในท่อเนื้อฟันโดยลูกศรจะชี้ให้เห็นแถบของซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันและวงกลมจะชี้ให้เห็นแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันซึ่งจะอยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟัน ภาพ (ก)แสดงเอเอชพลัสที่แถบซีเมนต์จะมีความแนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน สังเกตว่าในกลุ่มเอเอชพลัสแบคทีเรียถูกฝังกลบโดยแถบซีเมนต์ และภาพ (ข) โดยในกลุ่มซียูซีลเลอร์พบว่าแถบซีเมนต์มีลักษณะเป็นแท่งที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีความแนบสนิทกับท่อเนื้อฟัน และปิดอยู่เฉพาะส่วนต้นของท่อเนื้อฟัน (กำลังขยาย 2000 เท่า)



ภาพที่ 12 ภาพตัดขวางของท่อเนื้อฟันแสดงลักษณะของเอเอชพลัสที่มีการไหลแผ่ไปปิดทับแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน โดยจะพบว่าซีเมนต์จะเคลือบอยู่บริเวณผนังท่อเนื้อฟันและทับแบคทีเรียที่เกาะอยู่บริเวณผนัง (กำลังขยาย 10000 เท่า)

3. ผลการทดสอบความมีชีวิตของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

สำหรับชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันนั้น จะถูกนำมาทดสอบความมีชีวิตของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน โดยการกรอเอาผงเนื้อฟันมาเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งผลการทดลองพบว่า ชิ้นงานทุกชิ้นของกลุ่มที่อุดด้วยซีย์ซีลเลอร์และเอเอชพลัสที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันนั้น ยังสามารถพบว่าแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันยังมีชีวิตอยู่และสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อได้รับสารอาหาร โดยจะพบการเจริญของแบคทีเรียเมื่อเพาะผงเนื้อฟันเป็นเวลา 1 วัน และเมื่อทำการตรวจสอบเชื้อเหล่านั้นด้วยวิธีการดูลักษณะโคโลนีของเชื้อร่วมกับการย้อมสีกรัม ก็พบว่าเชื้อในท่อเนื้อฟันเหล่านั้นคือ *Enterococcus faecalis* แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

แม้ว่าแบคทีเรียที่เหลือรอดจากการกระบวนการรักษาคลองรากฟันจะมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้อีกครั้งเมื่อได้รับสารอาหาร แต่ยังไม่มีการศึกษาใดที่ยืนยันว่าแบคทีเรียที่อยู่ในท่อเนื้อฟันจะสามารถกลับเข้าสู่คลองรากฟันและเจริญเติบโตได้เมื่อมีสารอาหารในคลองรากฟัน แบคทีเรียดังกล่าวอาจอยู่ในสภาวะที่ขาดสารอาหารและถูกฝังกลบด้วยวัสดุอุดคลองรากฟันทำให้ไม่สามารถก่อให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันจะสามารถเจริญเติบโตได้อีกครั้งเมื่อได้รับสารอาหาร[7] และพบว่าฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันแล้วเมื่อได้รับแรงบดเคี้ยวก็จะเกิดรอยแยกระหว่างวัสดุอุดคลองรากฟันและซีเมนต์อุดคลองรากฟัน หรือระหว่างซีเมนต์อุดคลองรากฟันและผนังคลองรากฟัน[75] ซึ่งถ้าหากมีการเกิดรอยแยกนี้ร่วมกับการรั่วซึมที่ปลายรากฟันอาจเป็นทางให้สารซึมข้นจากปลายรากฟันซึมเข้าสู่คลองรากฟันและอาจทำให้แบคทีเรียในท่อเนื้อฟันกลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ เพื่อจำลองสถานการณ์ที่มีการรั่วซึมของสารอาหารเข้าไปในช่องว่างระหว่างซีเมนต์อุดคลองรากฟันกับผนังคลองรากฟันโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อดูความสามารถของแถบซีเมนต์ในท่อเนื้อฟันในว่าจะป้องกันแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้หรือไม่ การทดลองนี้ได้มีการพยายามจำลองสถานการณ์ดังกล่าวโดยรื้อกัตตาเปอร์ชาและซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่เคลือบบนผนังคลองรากฟันออกเพื่อให้เกิดลักษณะที่คล้ายกับการมีช่องว่างในคลองรากฟันและใส่อาหารเลี้ยงเชื้อเข้าไปในคลองรากฟันเพื่อจำลองการรั่วซึมของสารอาหารเข้าสู่คลองรากฟัน แม้จะมีลักษณะการจำลองสถานการณ์ในการศึกษานี้ที่อาจเกินกว่าความเป็นจริงในส่วนที่มีสารอาหารและพื้นที่สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมากกว่าปกติ แต่เป็นการออกแบบการทดลองเพื่อให้เห็นผลการทดลองที่ชัดเจน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าบางการศึกษาเป็นการศึกษาเชิงปริมาณโดยมีการรายงานถึงปริมาณของแบคทีเรียที่หลงเหลือในท่อเนื้อฟัน[64] ส่วนการศึกษานี้ที่ไม่ทำการวัดผลโดยพิจารณาปริมาณแบคทีเรียที่เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากการออกแบบการทดลองจำการวัดปริมาณแบคทีเรียทุกๆ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ *Enterocoocus faecalis* มีการแบ่งตัวโดยมี Mean generation time 54 นาที ดังนั้นการวัดปริมาณ

แบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ถูกทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะเป็นการวัดปริมาณแบคทีเรียที่ออกมาจากท่อเนื้อฟันและแบ่งตัวจนเต็มที่แล้ว ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวแทนของปริมาณแบคทีเรียที่ออกมาจากท่อเนื้อฟันได้ ดังนั้นการวัดผลว่าพบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือไม่ทุกๆ 1 วันจึงน่าจะเพียงพอต่อการประเมินผลการศึกษานี้

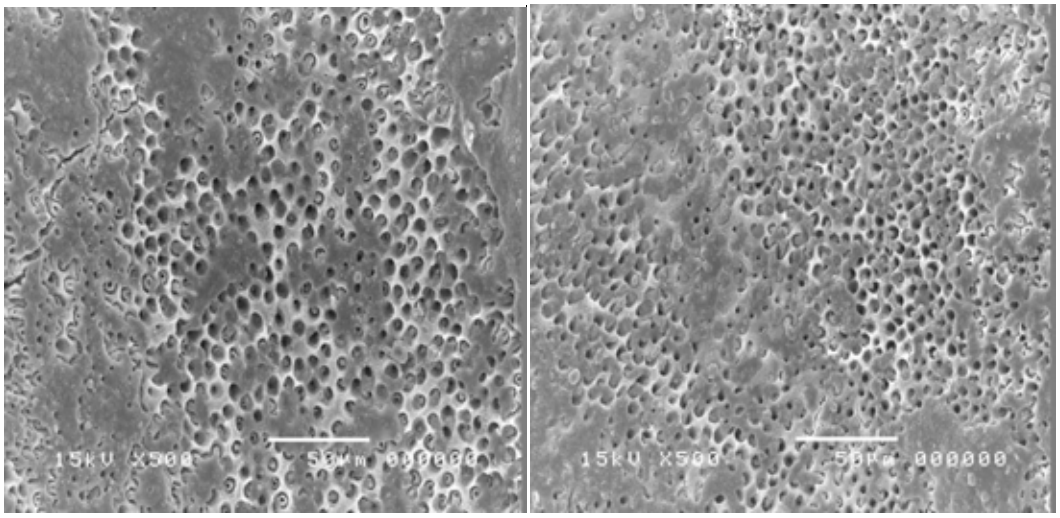
เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่ากระบวนการรักษาคลองรากฟันไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียในคลองรากฟันให้หมดไปได้ [3, 4, 8, 76] ในการศึกษานี้ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดแสดงให้เห็นถึงข้อมูลที่สนับสนุนข้อความดังกล่าว โดยยังพบว่ามีแบคทีเรียที่อยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันและไม่พบแบคทีเรียที่บริเวณส่วนต้นของท่อเนื้อฟัน ซึ่งอาจเป็นนัยว่ากระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันตามปกตินำจะสามารถกำจัดแบคทีเรียได้เฉพาะส่วนที่อยู่ใกล้ทางเข้าของท่อเนื้อฟันเท่านั้น จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่ในท่อเนื้อฟันภายหลังการอุดคลองรากฟันได้นาน 12 เดือนโดยไม่ได้รับสารอาหาร แต่ไม่มีการศึกษาที่พิสูจน์ว่าแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันเหล่านั้นสามารถกลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันภายหลังการขยายคลองรากฟันและการอุดคลองรากฟันสามารถกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันที่มีสารอาหารได้ โดยพบว่ามีการเจริญของเชื้อในคลองรากฟันได้ทั้งในกลุ่มที่อุดด้วยเอเอชพลัส ซีย ซีลเลอร์ และกลุ่ม positive control

แม้ว่ากลุ่ม positive control จะไม่มีแถบซีเมนต์อยู่ในท่อเนื้อฟัน แต่ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในวันแรกๆ ของการทดลอง ทั้งนี้พบว่าเริ่มสังเกตการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม positive control ได้ในวันที่ 10 ของการทดลอง อาจอ้างอิงจากการศึกษาของ Berutti 1997[4] และ Harrison 2010[77] ที่พบว่าการขยายและล้างคลองรากฟันสามารถกำจัดแบคทีเรียในส่วนต้นของท่อเนื้อฟันได้ แต่ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ โดยแบคทีเรียที่อยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันนั้นอาจต้องการเวลาในการที่จะเคลื่อนที่กลับเข้าสู่คลองรากฟัน เหตุผลที่เป็นอย่างนั้นเนื่องมาจากในท่อเนื้อฟันไม่มีสารอาหารให้แบคทีเรียใช้ในการเจริญเติบโตอาจจำเป็นต้องรอให้มีการแทรกซึมของสารอาหารจากในคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟันก่อน เมื่อแบคทีเรียได้รับสารอาหารแล้วก็อาจเจริญเติบโตได้ แต่เนื่องจากแบคทีเรียที่เหลือรอดอยู่ในท่อเนื้อฟันนั้นอาจอยู่ในสภาวะที่ขาดสารอาหาร ดังนั้นแบคทีเรียอาจต้องการเวลาในการฟื้นตัวเพื่อที่จะกลับมาแบ่งตัวได้อีกครั้ง[78] นอกจากนี้ Love และ Jenkinson[13] พบว่าการที่ *Enterococcus faecalis* จะแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันนั้น จะมีการแบ่งตัวเป็นสายเข้าไปในท่อเนื้อฟัน ในการเจริญของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันเข้าสู่คลองรากฟันก็อาจอธิบายได้ด้วยกระบวนการเดียวกัน

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากลุ่มเอเอชพลัสพบการกลับมาเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันได้ช้ากว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์ โดยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดแสดงให้เห็นว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งสองชนิดไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปปิดท่อเนื้อฟันได้ครบทุกท่อ เมื่อมีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันที่ไม่มีแถบซีเมนต์ก็มีความเป็นไปได้ที่แบคทีเรียเหล่านั้นอาจกลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มเอเอชพลัสมีลักษณะของซีเมนต์ที่เป็นเนื้อเดียวกันมากกว่า มีแถบซีเมนต์ที่ยาวกว่า และมีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันเป็นจำนวนมากกว่ากลุ่มซียูซีลเลอร์ซึ่งลักษณะทั้งหมดนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Mamootil และ Messer[10] นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันสามารถแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันที่มีแบคทีเรียได้ แสดงว่าแบคทีเรียไม่สามารถขัดขวางการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันได้ และพบว่าในกลุ่มเอเอชพลัสมีแถบซีเมนต์ที่ไหลไปฝังกลบแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้ ในขณะที่ไม่พบลักษณะเช่นนี้ในกลุ่มซียูซีลเลอร์ จากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วน่าจะทำให้โอกาสที่แบคทีเรียในกลุ่มซียูซีลเลอร์มีโอกาสที่จะกลับเข้าสู่คลองรากฟันได้มากกว่ากลุ่มเอเอชพลัส อย่างไรก็ตามทั้งกลุ่มเอเอชพลัสและกลุ่มซียูซีลเลอร์ล้วนมีชิ้นงานที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันตลอดระยะเวลา 30 วัน สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากการที่แบคทีเรียเหล่านี้มีปริมาณน้อยเกินกว่าที่สามารถตรวจพบการเจริญเติบโตได้ หรืออาจเป็นเพราะแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันจำเป็นต้องใช้เวลาที่นานกว่านี้ในการเจริญเติบโตกลับเข้าสู่คลองรากฟัน

เมื่อดูการแทรกซึมของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเข้าสู่ท่อเนื้อฟันอาจพิจารณาได้จากความลึกของซีเมนต์ที่เข้าสู่ท่อเนื้อฟัน ปริมาณซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน และคุณภาพของแถบซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน ในแง่ของความลึกการศึกษานี้ได้ทำการถ่ายภาพอิเล็กตรอนไมโครสโคปของท่อเนื้อฟันที่ระยะ 250 ไมโครเมตรจากผนังคลองรากฟันพบว่ามีแถบซีเมนต์ในกลุ่มเอเอชพลัสที่ยาวถึง 250 ไมโครเมตร ในขณะที่กลุ่มซียูซีลเลอร์พบว่าแถบซีเมนต์ที่เข้าไปลึกที่สุดยาวประมาณ 50 ไมโครเมตร โดยไม่พบแถบซีเมนต์ที่สามารถแทรกซึมเข้าไปได้ลึกกว่านี้ การที่ไม่สามารถวัดความลึกของแถบซีเมนต์มากกว่า 250 ไมโครเมตรได้เนื่องจากถ้าลดกำลังขยายของกล้องอิเล็กตรอนไมโครสโคปลงมากกว่านี้จะไม่สามารถมองเห็นแถบซีเมนต์ที่ชัดเจนได้ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความลึกของแถบซีเมนต์เทียบกับการศึกษาอื่นพบว่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Patel 2007[73] ที่พบว่าเอเอชพลัสเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึก 190 ไมโครเมตร ในขณะที่ Mamootil 2007[10] พบว่าเอเอช 26 เข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึกถึง 1337 ไมโครเมตร สำหรับกลุ่มซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลนั้น Mamootil 2007[10] พบว่าซีเมนต์สามารถเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึก 71 ไมโครเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษานี้ที่พบว่าเข้าได้ลึก 50 ไมโครเมตร แต่ในการศึกษาของ Vassiliadis 1994[72] พบว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์สามารถเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึกเฉลี่ย 200 ไมโครเมตร การที่พบความลึกของแถบซีเมนต์ที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจาก

ชนิดของซีเมนต์ที่ต่างกัน โดย Mamootil 2007[10] ใช้ซีเมนต์ PCS และ Vassiliadis 1994[72] ใช้กรอสแมนซีเมนต์ นอกจากนี้การออกแบบการทดลองเช่น การกำจัดซีเมนตัมก็อาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความสามารถในการแทรกซึมของซีเมนต์เข้าสู่ท่อเนื้อฟัน อย่างไรก็ตาม สิ่งที่น่าจะมีผลต่อการกลับมาสู่คลองรากฟันของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันน่าจะเป็นปริมาณของซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันมากกว่าความลึกของซีเมนต์ เนื่องจากการที่ซีเมนต์สามารถปิดกั้นท่อเนื้อฟันได้ปริมาณมากกมีโอกาสที่จะปิดกั้นแบคทีเรียไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้มาก ในแง่ปริมาณซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันจากภาพถ่ายอิเล็กตรอนไมโครสโคป แม้จะดูเหมือนว่าเอเอชพลัสจะแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีกว่าซียูซีลเลอร์ แต่การศึกษานี้ไม่ได้ทำการวัดปริมาณซีเมนต์ที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันอย่างเป็นระบบ เนื่องจากมีข้อจำกัดในการทดลองคือการศึกษานี้มีลักษณะของตะกอนที่มาคลุมผนังคลองรากฟัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใส่อาหารเลี้ยงเชื้อไว้นาน 30 วัน ทำให้มีตะกอนบนผนังคลองรากฟันดังแสดงในภาพที่ 10 ทำให้ไม่สามารถศึกษาถึงปริมาณของท่อเนื้อฟันที่มีซีเมนต์แทรกซึมได้



ภาพที่ 13 แสดงลักษณะของตะกอนสารอินทรีย์ที่ปิดบังส่วนของท่อเนื้อฟันทำให้ไม่สามารถนับจำนวนท่อเนื้อฟันที่มีซีเมนต์แทรกซึมเข้าไปได้

นอกจากความสามารถในการไหลแผ่ของเอเอชพลัสที่ดีกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เอเอชพลัสสามารถยับยั้งการกลับมาเจริญของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันดีกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์แล้ว การละลายตัวในของเหลวก็อาจเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงของของซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์ ซึ่งเอเอชพลัสก็มีการละลายตัวที่น้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลด้วย[57] แต่เมื่อพิจารณาการศึกษาทางคลินิกแล้วฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันจะต้องอยู่ในช่องปากเป็นระยะเวลานาน โดยมีรายงานเคสผู้ป่วยของ Vieira และคณะ[79] ซึ่งพบว่าฟันที่ผ่านการรักษา

คลองรากฟันและอุดด้วยซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์แล้วเมื่อผ่านไป 9 ปีพบว่ามีการหายของรอยโรครอบปลายรากฟันแล้ว แต่เมื่อติดตามผลการรักษาจนถึงปีที่ 12 พบว่ากลับเกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันขึ้นใหม่ แม้ว่าจะไม่พบการรั่วซึมของวัสดุบูรณะ แต่พบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่เคยไหลแผ่เกินออกไปนอกปลายรากฟันและในคลองรากกิ่ง (Lateral canal) มีการละลายไป เมื่อพิจารณาแบคทีเรียที่พบในระบบคลองรากฟันนั้นด้วยลักษณะทางพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ (histopathology) พบแบคทีเรียเฉพาะในท่อเนื้อฟันเท่านั้น การศึกษานี้อาจสนับสนุนความสามารถของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันที่จะกลับมาเจริญในคลองรากฟันที่มีสารอาหารและก่อการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ ดังนั้นถ้าหากมีการรั่วซึมของของเหลวเข้าสู่คลองรากฟัน ซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่ละลายตัวในของเหลวได้ดีย่อมจะทำให้เกิดการรั่วซึมและเกิดช่องว่างในคลองรากฟันได้มากกว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่ละลายตัวน้อย

มีการศึกษามากมายที่ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งสองชนิดแต่ผลการศึกษายังเป็นที่ขัดแย้งอยู่เนื่องจากการศึกษาเหล่านี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการซึ่งอาจไม่สามารถจำลองสถานการณ์ทางคลินิกได้ แม้โดยสรุปจะพบว่าซีเมนต์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย[60, 64, 65] แต่ในการศึกษานี้ปัจจัยในแง่ของฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อของซีเมนต์อาจไม่มีผลต่อการศึกษามากนักโดยพบว่าภายหลังการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์ทั้งสองชนิดก็ยังพบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ การที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันไม่สามารถออกฤทธิ์กำจัดแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันให้หมดไปได้อาจเป็นเพราะแบคทีเรียเหล่านั้นอยู่ลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟันซึ่งอาจเป็นบริเวณที่ซีเมนต์ไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปถึง ในขณะที่การสัมผัสกับแบคทีเรียโดยตรงเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียจะพบมากภายหลังการผสมซีเมนต์เสร็จและจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป[61, 65] ดังนั้นฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซีเมนต์อุดคลองรากฟันจึงไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันให้หมดไปได้

แม้ว่าผลการศึกษานี้จะพบว่าเอเอชพลัสมีลักษณะที่จะปิดกั้นแบคทีเรียทางกายภาพเหนือกว่ากลุ่มซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล แต่ซีเมนต์ทั้งสองชนิดก็ยังไม่สามารถยับยั้งหรือฝังกลบแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้อย่างสมบูรณ์ แม้กลุ่มเอเอชพลัสจะมีการแทรกซึมที่ดีกว่าซียูซีลเลอร์และใช้เวลาในการติดเชื้อนานกว่า แต่พบว่าจำนวนชิ้นงานที่พบการติดเชื้อของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และในการศึกษาทางคลินิกที่ติดตามผลการรักษานาน 4 ปี พบว่าการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์ทั้งสองกลุ่มนี้มีการหายของรอยโรครอบปลายรากฟันในภาพรังสีไม่ต่างกัน [55, 56, 80] ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณแบคทีเรียที่น้อยเกินกว่าปริมารที่ก่อให้เกิดโรคได้ และแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่อาจ

ถูกกำจัดโดยภูมิต้านทานของร่างกายและอาจขึ้นกับการอุดคลองรากฟันที่มีผลช่วยลดปริมาณแบคทีเรียอีกด้วย[81] เมื่อดูปริมาณแบคทีเรียยังไม่มีการศึกษาใดที่บอกได้ว่าแบคทีเรียปริมาณเท่าใดที่จะสามารถก่อให้เกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ แม้ว่าจะไม่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ดังที่กล่าวมาได้ทั้งหมด แต่อย่างน้อยการลดปริมาณแบคทีเรียด้วยการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่มีการไหลแผ่ที่ดีก็อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยลดโอกาสของการเกิดการอักเสบรอบปลายรากฟันได้ นอกจากนี้การลดจำนวนแบคทีเรียด้วยการทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยวิธีต่างๆ เช่นการล้างคลองรากฟันด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic irrigation) ก็อาจช่วยลดปริมาณแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้ [77] การอุดคลองรากฟันให้มีคุณภาพดีมีความแน่นเต็มทั้งสามมิติ และการบูรณะในส่วนของตัวฟันให้มีสภาพดีเพื่อป้องกันการติดเชื้อซ้ำของแบคทีเรียจากในช่องปาก ทั้งหมดนี้จะมีส่วนช่วยในการหายของการอักเสบรอบปลายรากฟันได้

สรุปผลการวิจัย

แบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันมีความสามารถที่จะกลับมาเจริญเติบโตในคลองรากฟันที่มีสารอาหารได้อีกครั้ง ซึ่งการอุดคลองรากฟันโดยใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟันร่วมด้วยน่าจะมีประโยชน์ในการจัดการกับแบคทีเรียที่หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟัน แม้ว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้งสองชนิดจะไม่สามารถฝังกลบแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันได้อย่างสมบูรณ์ แต่การอุดคลองรากฟันด้วยเอเอชพลัสที่มีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีนั้นน่าจะมีประโยชน์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าซียูซีลเลอร์ภายใต้ข้อจำกัดของการวิจัยครั้งนี้

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาผลของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันเท่านั้น จึงไม่อาจสรุปผลรวมไปถึงการอุดคลองรากฟันทั้งระบบคลองรากฟันได้ เนื่องจากในทางคลินิกนั้นมีปัจจัยหลายประการที่จะส่งผลต่อความสำเร็จของการรักษาเช่น ภูมิคุ้มกันของคนไข้ ชนิดของแบคทีเรียที่หลากหลาย ในขณะที่การศึกษานี้ใช้ *Enterococcus faecalis* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียในคลองรากฟัน นอกจากนี้ควรมีการติดตามผลการทดลองที่นานกว่า 30 วัน เนื่องจากในทางคลินิกฟันที่

ผ่านการรักษาคลองรากฟันจะต้องถูกใช้งานและได้รับแรงบดเคี้ยวเป็นเวลานานหลายปี ซึ่งถ้าหากติดตามผลเป็นเวลานานผลการทดลองอาจแตกต่างไปจากการศึกษานี้ก็เป็นได้

การที่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีความสามารถในการไหลแผ่ได้ดีจะช่วยเติมเต็มช่องว่างและช่วยในการยับยั้งแบคทีเรียไม่ให้กลับเข้าสู่คลองรากฟันได้ ดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรจะมีการพัฒนาซีเมนต์อุดคลองรากฟันให้มีการไหลแผ่ที่ดีมากขึ้น ปัจจุบันมีการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้กับวัสดุทางทันตกรรมหลายชนิด ได้แก่ วัสดุอุดเรซินคอมโพสิท ไบโอแอคทิฟกลาส และโลหะที่เคลือบผิวรากเทียม เป็นต้น โดยอาจนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาคุณภาพของวัสดุอุดคลองรากฟันได้โดยการลดขนาดอนุภาคของวัสดุให้เล็กลงถึงขนาดนาโนเมตรจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมีอย่างมาก[82] จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำเทคโนโลยีนี้มาใช้พัฒนาซีเมนต์อุดคลองรากฟันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวัสดุ

รายการอ้างอิง

(1) Kakehashi S.; Stanley H. R. and Fitzgerald R. J. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. (Sep 1965): 340-349.

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

(3) Bystrom A. and Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. (Mar 1983): 307-312.

(4) Berutti E.; Marini R. and Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **J Endod**. (Dec 1997): 725-727.

(5) Matsuo T.; Shirakami T.; Ozaki K.; Nakanishi T.; Yumoto H. and Ebisu S. An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions. **J Endod**. (Mar 2003): 194-200.

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

(7) Sedgley C. M.; Lennan S. L. and Appelbe O. K. Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo. **Int Endod J**. (Oct 2005): 735-742.

(8) Sjogren U.; Figdor D.; Persson S. and Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**. (Sep 1997): 297-306.

(9) de Chevigny C.; Dao T. T.; Basrani B. R.; Marquis V.; Farzaneh M.; Abitbol S., et al. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study--phase 4: initial treatment. **J Endod**. (Mar 2008): 258-263.

(10) Mamootil K. and Messer H. H. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. **Int Endod J**. (Nov 2007): 873-881.

(11) Kokkas A. B.; Boutsioukis A.; Vassiliadis L. P. and Stavrianos C. K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **J Endod**. (Feb 2004): 100-102.

(12) Ando N. and Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. **Int Endod J**. (Jan 1990): 20-27.

(13) Love R. M. and Jenkinson H. F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Crit Rev Oral Biol Med**. 2002): 171-183.

(14) Siqueira J. F., Jr.; Rocas I. N. and Lopes H. P. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (Feb 2002): 174-178.

(15) Haapasalo M. and Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res**. (Aug 1987): 1375-1379.

(16) Kouchi Y.; Ninomiya J.; Yasuda H.; Fukui K.; Moriyama T. and Okamoto H. Location of Streptococcus mutans in the dentinal tubules of open infected root canals. **J Dent Res**. (Dec 1980): 2038-2046.

(17) Love R. M. Regional variation in root dentinal tubule infection by Streptococcus gordonii. **J Endod**. (Jun 1996): 290-293.

(18) Akpata E. S. and Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. **J Dent Res**. (Feb 1982): 435-438.

(19) Peters L. B.; Wesselink P. R.; Buijs J. F. and van Winkelhoff A. J. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. **J Endod**. (Feb 2001): 76-81.

(20) Love R. M.; McMillan M. D.; Park Y. and Jenkinson H. F. Coinvasion of dentinal tubules by Porphyromonas gingivalis and Streptococcus gordonii depends upon binding specificity of streptococcal antigen I/II adhesin. **Infect Immun**. (Mar 2000): 1359-1365.

(21) Haapasalo M.; Ya Shen and Ricucci D. Reasons for persistent and emerging post-treatment endodontic disease. **Endodntic Topics**. 2011): 31-50.

(22) Siqueira J. F., Jr.; De Uzeda M. and Fonseca M. E. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J Endod**. (Jun 1996): 308-310.

(23) Peciuliene V.; Balciuniene I.; Eriksen H. M. and Haapasalo M. Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population. **J Endod**. (Oct 2000): 593-595.

(24) Siqueira J. F., Jr. and Rocas I. N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (Jan 2004): 85-94.

(25) Molander A.; Reit C.; Dahlen G. and Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**. (Jan 1998): 1-7.

(26) Distel J. W.; Hatton J. F. and Gillespie M. J. Biofilm formation in medicated root canals. **J Endod**. (Oct 2002): 689-693.

(27) George S.; Kishen A. and Song K. P. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by Enterococcus faecalis. **J Endod**. (Dec 2005): 867-872.

(28) Gomes B. P.; Ferraz C. C.; Vianna M. E.; Rosalen P. L.; Zaia A. A.; Teixeira F. B., et al. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. **Braz Dent J**. 2002): 155-161.

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

(30) Moller A. J.; Fabricius L.; Dahlen G.; Sundqvist G. and Happonen R. P. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **Eur J Oral Sci**. (Jun 2004): 207-215.

(31) Shuping G. B.; Orstavik D.; Sigurdsson A. and Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. **J Endod**. (Dec 2000): 751-755.

(32) Peters O. A.; Schonenberger K. and Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. **Int Endod J**. (Apr 2001): 221-230.

(33) Ramachandran Nair P. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. . **Journal of Endodontics**. 1987): 29-39.

(34) Clegg M. S.; Vertucci F. J.; Walker C.; Belanger M. and Britto L. R. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. **J Endod**. (May 2006): 434-437.

(35) Law A. and Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. **J Endod**. (Oct 2004): 689-694.

(36) Estrela C.; Pimenta F. C.; Ito I. Y. and Bammann L. L. Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. **J Endod**. (Jun 1999): 416-418.

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

(38) Wang J. D. and Hume W. R. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentine. **Int Endod J**. (Jan 1988): 17-26.

(39) Katebzadeh N.; Hupp J. and Trope M. Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. **J Endod**. (May 1999): 364-368.

(40) Klevant F. J. and Eggink C. O. The effect of canal preparation on periapical disease. **Int Endod J**. (Apr 1983): 68-75.

(41) Khayat A.; Lee S. J. and Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. **J Endod**. (Sep 1993): 458-461.

(42) Torabinejad M.; Ung B. and Kettering J. D. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. **J Endod**. (Dec 1990): 566-569.

(43) Heling I.; Bialla-Shenkman S.; Turetzky A.; Horwitz J. and Sela J. The outcome of teeth with periapical periodontitis treated with nonsurgical endodontic treatment: a computerized morphometric study. **Quintessence Int**. (May 2001): 397-400.

(44) Tani-Ishii N. and Teranaka T. Clinical and radiographic evaluation of root-canal obturation with obtura II. **J Endod**. (Nov 2003): 739-742.

(45) Chugal N. M.; Clive J. M. and Spangberg L. S. Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (Jul 2003): 81-90.

(46) Frisk F. Epidemiological aspects on apical periodontitis. Studies based on the Prospective Population Study of Women in Goteborg and the Population Study on Oral Health in Jonkoping, Sweden. **Swed Dent J Suppl**. 2007): 11-78, 11 p preceding table of contents.

(47) Fabricius L.; Dahlen G.; Sundqvist G.; Happonen R. P. and Moller A. J. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. **Eur J Oral Sci**. (Aug 2006): 278-285.

(48) Heling I. and Chandler N. P. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. **J Endod**. (May 1996): 257-259.

(49) Mickel A. K.; Nguyen T. H. and Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on Enterococcus faecalis. **J Endod**. (Apr 2003): 257-258.

(50) Allan N. A.; Walton R. C. and Schaeffer M. A. Setting times for endodontic sealers under clinical usage and in vitro conditions. **J Endod**. (Jun 2001): 421-423.

(51) Kazemi R. B.; Safavi K. E. and Spangberg L. S. Dimensional changes of endodontic sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. (Dec 1993): 766-771.

(52) Peters D. D. Two-year in vitro solubility evaluation of four Gutta-percha sealer obturation techniques. **J Endod**. (Apr 1986): 139-145.

(53) Kronman J. H. and Goldman M. Biological evaluation of hydron. **J Endod**. (Oct 1981): 441-443.

(54) Elayouti A.; Achleithner C.; Lost C. and Weiger R. Homogeneity and adaptation of a new gutta-percha paste to root canal walls. **J Endod**. (Sep 2005): 687-690.

(55) Orstavik D.; Kerekes K. and Eriksen H. M. Clinical performance of three endodontic sealers. **Endod Dent Traumatol**. (Aug 1987): 178-186.

(56) Ng Y. L.; Mann V.; Rahbaran S.; Lewsey J. and Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature -- Part 2. Influence of clinical factors. **Int Endod J**. (Jan 2008): 6-31.

(57) Schafer E. and Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. **Int Endod J**. (Oct 2003): 660-669.

(58) Grossman L. I. Solubility of root canal cements. **J Dent Res**. (Sep-Oct 1978): 927.

(59) Orstavik D. Weight loss of endodontic sealers, cements and pastes in water. **Scand J Dent Res**. (Aug 1983): 316-319.

(60) Zhang H.; Shen Y.; Ruse N. D. and Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against Enterococcus faecalis. **J Endod**. (Jul 2009): 1051-1055.

(61) Neelakantan P. and Subbarao C. V. An analysis of the antimicrobial activity of ten root canal sealers--a duration based in vitro evaluation. **J Clin Pediatr Dent**. (Winter 2008): 117-122.

(62) Pizzo G.; Giammanco G. M.; Cumbo E.; Nicolosi G. and Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. **J Dent**. (Jan 2006): 35-40.

(63) Kayaoglu G.; Erten H.; Alacam T. and Orstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards Enterococcus faecalis. **Int Endod J**. (Jul 2005): 483-488.

(64) Saleh I. M.; Ruyter I. E.; Haapasalo M. and Orstavik D. Survival of Enterococcus faecalis in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. **Int Endod J**. (Mar 2004): 193-198.

(65) Gomes B. P.; Pedroso J. A.; Jacinto R. C.; Vianna M. E.; Ferraz C. C.; Zaia A. A., et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. **Braz Dent J**. 2004): 30-35.

(66) Siqueira J. F., Jr.; Favieri A.; Gahyva S. M.; Moraes S. R.; Lima K. C. and Lopes H. P. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. **J Endod**. (May 2000): 274-277.

(67) Shin S. J.; Jee S. W.; Song J. S.; Jung I. Y.; Cha J. H. and Kim E. Comparison of regrowth of Enterococcus faecalis in dentinal tubules after sealing with gutta-percha or Resilon. **J Endod**. (Apr 2008): 445-448.

(68) Carrigan P. J.; Morse D. R.; Furst M. L. and Sinai I. H. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. **J Endod**. (Aug 1984): 359-363.

(69) Tronstad L. Ultrastructural observations on human coronal dentin. **Scand J Dent Res**. 1973): 101-111.

(70) Gharib S. R.; Tordik P. A.; Imamura G. M.; Baginski T. A. and Goodell G. G. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. **J Endod**. (Aug 2007): 957-961.

(71) Ordinola-Zapata R.; Bramante C. M.; Bernardineli N.; Graeff M. S.; Garcia R. B.; de Moraes I. G., et al. A preliminary study of the percentage of sealer penetration in roots obturated with the Thermafil and RealSeal-1 obturation techniques in mesial root canals of mandibular molars. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. (Dec 2009): 961-968.

(72) Vassiliadis L. P.; Sklavounos S. A. and Stavrianos C. K. Depth of penetration and appearance of Grossman sealer in the dentinal tubules: an in vivo study. **J Endod**. (Aug 1994): 373-376.

(73) Patel D. V.; Sherriff M.; Ford T. R.; Watson T. F. and Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. **Int Endod J**. (Jan 2007): 67-71.

(74) Jacob A. E. and Hobbs S. J. Conjugal transfer of plasmid-borne multiple antibiotic resistance in Streptococcus faecalis var. zymogenes. **J Bacteriol**. (Feb 1974): 360-372.

(75) Bishop D.; Griggs J. and He J. Effect of dynamic loading on the integrity of the interface between root canal and obturation materials. **J Endod**. (Apr 2008): 470-473.

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

(77) Harrison A. J.; Chivatxaranukul P.; Parashos P. and Messer H. H. The effect of ultrasonically activated irrigation on reduction of Enterococcus faecalis in experimentally infected root canals. **Int Endod J**. (Nov 2010): 968-977.

(78) Chivatxaranukul P.; Dashper S. G. and Messer H. H. Dentinal tubule invasion and adherence by Enterococcus faecalis. **Int Endod J**. (Oct 2008): 873-882.

(79) Vieira A. R.; Siqueira J. F., Jr.; Ricucci D. and Lopes W. S. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. **J Endod**. (Feb: 250-254.

(80) Eriksen H. M.; Orstavik D. and Kerekes K. Healing of apical periodontitis after endodontic treatment using three different root canal sealers. **Endod Dent Traumatol**. (Jun 1988): 114-117.

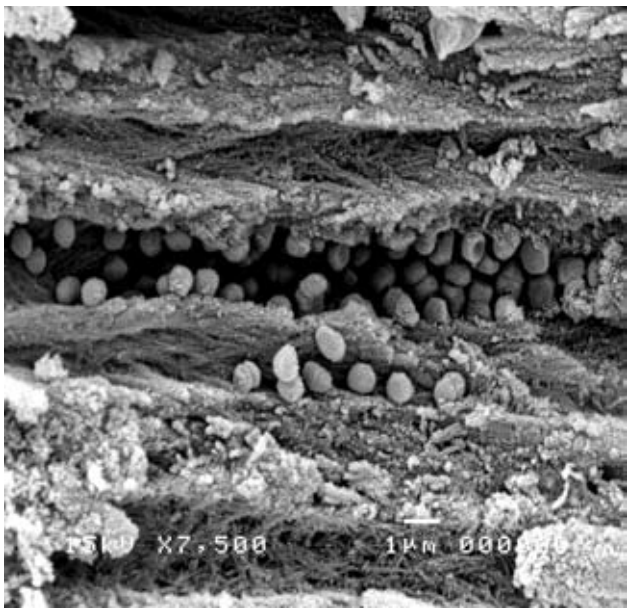
(81) Siqueira J. F., Jr. and Rocas I. N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **J Endod**. (Nov 2008): 1291-1301 e1293.

(82) Allaker R. P. and Ren G. Potential impact of nanotechnology on the control of infectious diseases. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. (Jan 2008): 1-2.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การศึกษานำร่องถึงการแทรกซึมของแบคทีเรียเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน

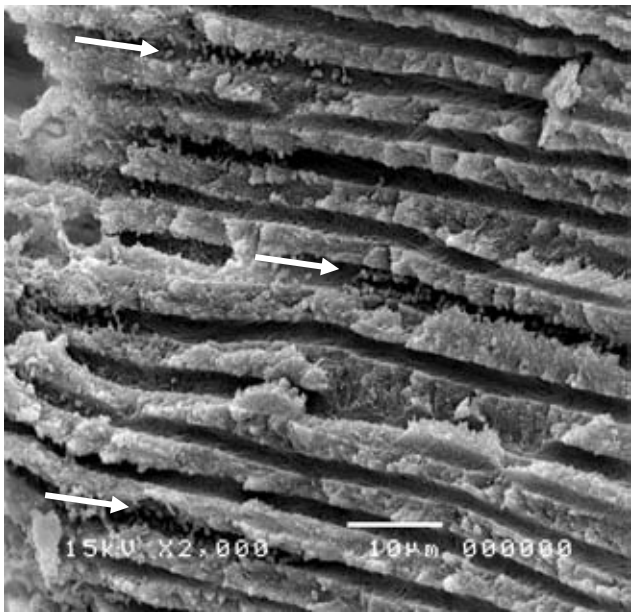
ในส่วนนี้จะมีการศึกษานำร่องโดยนำชิ้นฟันจำนวน 4 ชิ้นที่ผ่านการเพาะเชื้อนาน 4 สัปดาห์มาทำการพิสูจน์ว่ามีการแทรกซึมของแบคทีเรียเข้าสู่ท่อเนื้อฟันจริง ทำโดยนำชิ้นฟัน 2 ชิ้นมาแบ่งเป็นสองส่วนในแนวขนานกับแกนฟันโดยตัดจากด้านใกล้แก้มมาด้านใกล้ลิ้น การแบ่งฟันจะทำโดยการกรอร่องที่ด้านนอกของฟันทั้งด้านใกล้แก้มและด้านใกล้ลิ้นจากนั้นใช้มีดเบอร์ 15 ทำการกะเทาะให้ฟันแตกออกเป็นสองส่วน และนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีการแทรกซึมของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* เข้าสู่ท่อเนื้อฟันจริง ลักษณะของแบคทีเรียจะพบว่าอยู่เป็นสายยาวเข้าไปในท่อเนื้อฟันโดยพบว่าแบคทีเรียแทรกซึมได้ลึกประมาณ 500 ไมโครเมตร ซึ่งแบคทีเรียที่แทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันนั้นจะพบแบบสุ่ม โดยในท่อเนื้อฟันบางตำแหน่งก็ไม่พบแบคทีเรียเลย ในขณะที่บางตำแหน่งมีแบคทีเรียแทรกซึมเข้าไปได้ลึกและมีปริมาณมาก



ภาพที่ 14 แสดงการแทรกซึมของ *Enterococcus faecalis* เข้าสู่ท่อเนื้อฟันเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

ภาคผนวก ข. การศึกษานำร่องเพื่อตรวจสอบว่ามีแบคทีเรียหลงเหลือในคลองรากฟันหลังการทำความสะอาดคลองรากฟัน

ในส่วนนี้จะมีการศึกษานำร่องโดยนำฟันที่ผ่านกระบวนการขยายคลองรากฟันแล้วมาตรวจสอบว่ายังมีแบคทีเรียเหลือในท่อเนื้อฟันจริงหรือไม่ โดยนำชิ้นฟัน 2 ชิ้นมาแบ่งเป็นสองส่วนในแนวขนานกับแกนฟันโดยตัดจากด้านใกล้แก้มมาด้านใกล้ลิ้น การแบ่งฟันจะทำโดยการกรอร่องที่ด้านนอกของฟันทั้งด้านใกล้แก้มและด้านใกล้ลิ้นจากนั้นใช้มีดเบอร์ 15 ทำการกะเทาะให้ฟันแตกออกเป็นสองส่วน เพื่อพิสูจน์ว่ากระบวนการทำความสะอาดคลองรากฟันไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันให้หมดไปได้ โดยนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ผลการศึกษานำร่องพบว่ายังมีแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* หลงเหลืออยู่ในท่อเนื้อฟันมีลักษณะเป็นสายยาว โดยพบได้ตั้งแต่บริเวณใกล้กับผนังคลองรากฟันและลึกเข้าไปในท่อเนื้อฟัน ลักษณะการพบแบคทีเรียก็เป็นแบบสุ่ม เช่นเดียวกับที่พบภายหลังการเพาะเชื้อคือบางตำแหน่งก็พบแบคทีเรียเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ลึกและมีปริมาณมาก ในขณะที่บางตำแหน่งไม่พบแบคทีเรียเลย โดยรวมแล้วพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่าที่พบในขั้นตอนก่อนทำความสะอาดคลองรากฟัน

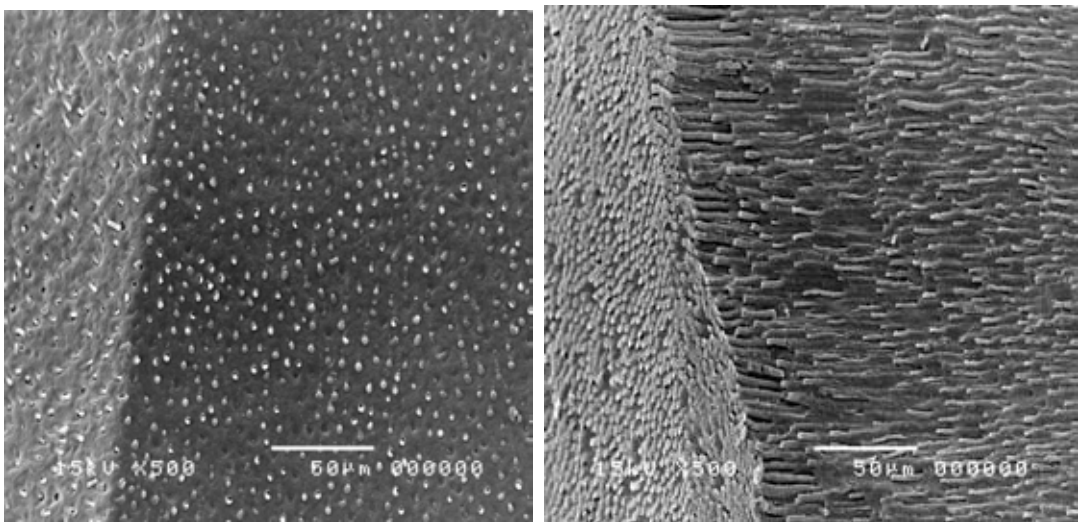


ภาพที่ 15 แสดงการศึกษานำร่องพบว่ามี *Enterococcus faecalis* (ลูกศร) หลงเหลือในท่อเนื้อฟันภายหลังการขยายคลองรากฟัน

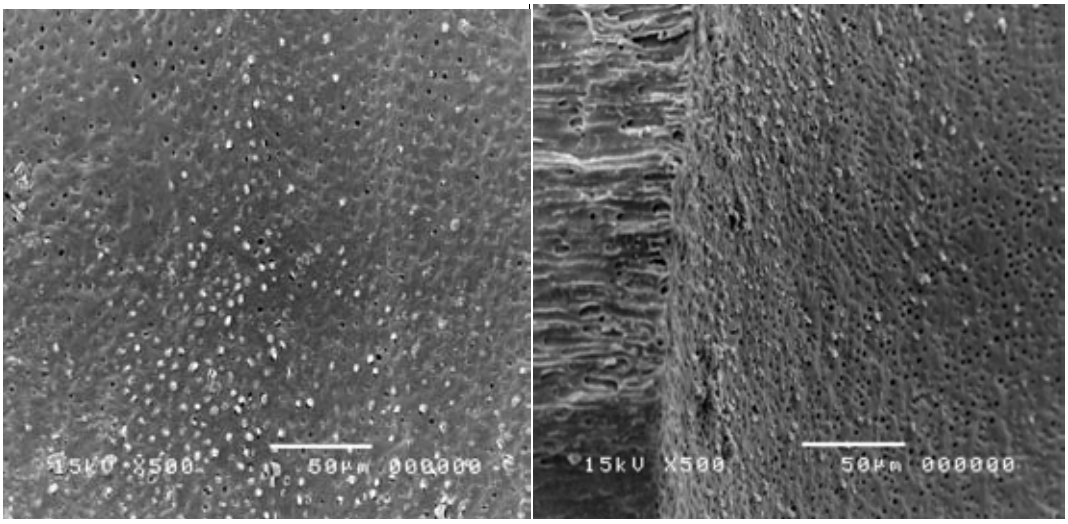
ภาคผนวก ค. การศึกษานำร่องเพื่อตรวจสอบว่ามีซีเมนต์อุดคลองรากฟันหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันภายหลังการรื้อกัตตาเปอร์ชา

ทำการศึกษานำร่องโดยนำฟันที่ผ่านการขยายคลองรากฟันและอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้ง 2 ชนิด มาทำการรื้อกัตตาเปอร์ชาตามวิธีที่กล่าวไปในวิธีดำเนินการวิจัยและนำชิ้นฟัน 2 ชิ้นมาแบ่งเป็นสองส่วนในแนวขนานกับแกนฟันโดยตัดจากด้านใกล้แก้มมาด้านใกล้ลิ้น การแบ่งฟันจะทำโดยการกรอร่องที่ด้านนอกของฟันทั้งด้านใกล้แก้มและด้านใกล้ลิ้นจากนั้นใช้มีดเบอร์ 15 ทำการกะเทาะให้ฟันแตกออกเป็นสองส่วน เพื่อพิสูจน์ว่า วิธีการรื้อกัตตาเปอร์ชาดังกล่าวสามารถทำให้เหลือเฉพาะซีเมนต์ที่แทรกซึมอยู่ในท่อเนื้อฟันได้

โดยผลการศึกษานำร่องจะพบว่ากลุ่มเอเอชพลัสจะมีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ดีมาก โดยจะพบซีเมนต์ในท่อเนื้อฟันปริมาณมากและเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ลึก ในขณะที่ซียูซีลเลอร์จะมีการแทรกซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ไม่ดีนัก โดยจะมีปริมาณน้อยของท่อเนื้อฟันที่มีการแทรกซึมและเข้าสู่ท่อเนื้อฟันได้ตื้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับเอเอชพลัส

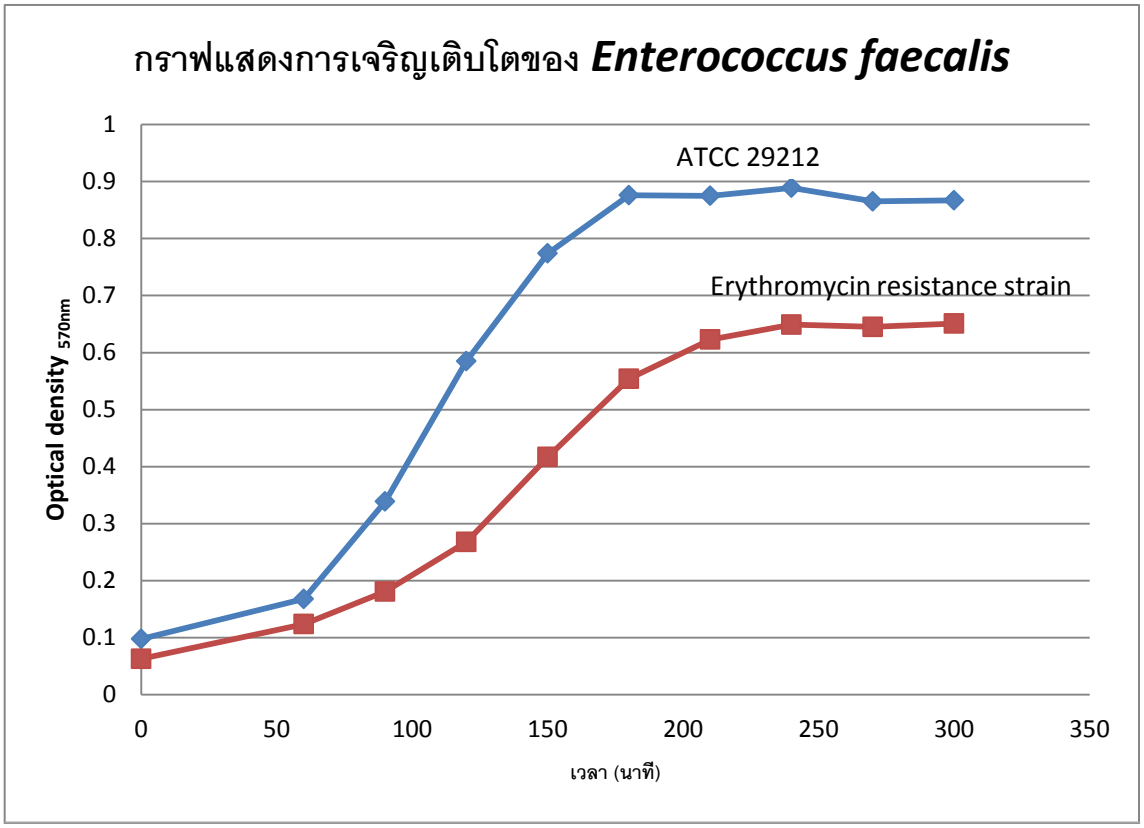


ภาพที่ 16 แสดงการศึกษานำร่องพบว่ามีการหลงเหลืออยู่ของเอเอชพลัสในท่อเนื้อฟันภายหลังทำการกำจัดกัตตาเปอร์ชาออกจากชิ้นฟัน



ภาพที่ 17 แสดงการศึกษานำร่องพบว่ามีการหลงเหลืออยู่ของซีย์ซีลเลอร์ในท่อเนื้อฟันภายหลังทำการกำจัดกัตตาเปอร์ชาออกจากชิ้นฟัน

ภาคผนวก ง. แสดงการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* เปรียบเทียบสองสายพันธุ์ คือ ATCC 29212 ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐาน กับ erythromycin resistant strain, JH2-2 carrying plasmid pGh9:ISS1, derived from the parental strain JH2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะอีริโทรมัยซินซึ่งถูกนำมาใช้ในการทดลองนี้



ภาพที่ 15 แสดงกราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* เปรียบเทียบสองสายพันธุ์คือ ATCC 29212 และ erythromycin resistant strain โดยวัดที่ความเข้มแสง 570 นาโนเมตร

ภาคผนวก จ. แสดงวันที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในคลองรากฟันของทุกกลุ่มการทดลอง

ชิ้นงานที่/กลุ่มการทดลอง	AH plus (n=10)	CU sealer (n=10)	Positive control (n=5)	Negative control (n=5)	Sterile control (n=5)
1	-	15	14	-	-
2	23	13	14	-	-
3	-	-	13	-	-
4	-	16	10	-	-
5	25	-	12	-	-
6	-	19			
7	23	-			
8	-	19			
9	-	18			
10	-	16			

หมายเหตุ – หมายถึงชิ้นงานนั้นไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ภาคผนวก ฉ. แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มเอเอชพลัสและซียูซีลเลอร์ โดยใช้สถิติไคสแควร์

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.200[a]	1	.074		
Continuity Correction[b]	1.800	1	.180		
Likelihood Ratio	3.291	1	.070		
Fisher's Exact Test				.179	.089
Linear-by-Linear Association	3.040	1	.081		
N of Valid Cases	20				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.00.

b. Computed only for a 2x2 table

จากตารางพบว่าค่า P คือ 0.179 แสดงให้เห็นว่าเอเอชพลัสมีจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันไม่แตกต่างจากกลุ่มซียูซีลเลอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาคผนวก ช. แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นงานที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มเอเอชพลัสและ positive control โดยใช้สถิติไคสแควร์

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6.563[a]	1	.010		
Continuity Correction[b]	4.051	1	.044		
Likelihood Ratio	8.510	1	.004		
Fisher's Exact Test				.026	.019
Linear-by-Linear Association	6.125	1	.013		
N of Valid Cases	15				

a. 3 cells (75.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.33.

b. Computed only for a 2x2 table

จากตารางพบว่าค่า P คือ 0.026 แสดงให้เห็นว่าเอเอชพลัสมีจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันน้อยกว่ากลุ่ม positive control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาคผนวก ซ. แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มซียูซีลเลอร์และ positive control โดยใช้สถิติไคสแควร์

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.875[a]	1	.171		
Continuity Correction[b]	.469	1	.494		
Likelihood Ratio	2.795	1	.095		
Fisher's Exact Test				.505	.264
Linear-by-Linear Association	1.750	1	.186		
N of Valid Cases	15				

a. 3 cells (75.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.00.

b. Computed only for a 2x2 table

จากตารางพบว่าค่า P คือ 0.505 แสดงให้เห็นว่าซียูซีลเลอร์มีจำนวนชิ้นฟันที่พบการเจริญของแบคทีเรียในคลองรากฟันไม่แตกต่างจากกลุ่ม positive control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาคผนวก ฌ. แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างของระยะเวลาที่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียระหว่างกลุ่มเอเอชพลัส ซีย์ซีลเลอร์และ Positive control โดยใช้สถิติ Kruskal-Wallis

Kruskal-Wallis test

Variables: AH, ZOE, Positive

Groups = 3
df = 2
Total observations = 15

T = 10.607143
P = 0.005

Adjusted for ties:

T = 10.74141
P = 0.0047

At least one of your sample populations tends to yield larger observations than at least one other sample population.

พบว่าทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าค่า P= 0.004 แสดงว่ามีคู่ใดคู่หนึ่งในสามกลุ่มนี้ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงทำการทดสอบต่อด้วย Cononver-Inman post hoc test

Kruskal-Wallis: all pairwise comparisons (Conover-Inman)

Critical t (12 df) = 2.178813

AH and ZOE	significant
(5.357143 > 3.575341)	P = 0.0068
AH and Positive	significant
(10.5 > 3.783785)	P < 0.0001
ZOE and Positive	significant
(5.142857 > 3.033777)	P = 0.0031

ผลการวิเคราะห์พบว่าทั้งสามคู่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวพรทิพย์ แซ่อึ้ง เกิดเมื่อวันที่ 2 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาทันตแพทย์ศาสตร์บัณฑิต จากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2550 ได้เข้ารับราชการตำแหน่งทันตแพทย์ที่โรงพยาบาลบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี ในปีพ.ศ. 2550-2551 และปฏิบัติงานเป็นทันตแพทย์เอกชนตั้งแต่ปี 2551 เป็นต้นมา

ปัจจุบันศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย