บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากร (Population)

เป็นฟันรากเดียวที่มีความลึกของร่องลึกปริทันต์อย่างน้อย 6 มิลลิเมตร โดยมิได้กำหนดขนาดรูปร่างของรอยโรค ผู้วิจัยตระหนักในเรื่องดังกล่าวจึงได้กำหนดให้ใส่ยาให้เต็มรอยโรค เพื่อให้ปริมาณของยาต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ของรอยโรคเท่ากัน

กลุ่มตัวอย่าง (Sample)

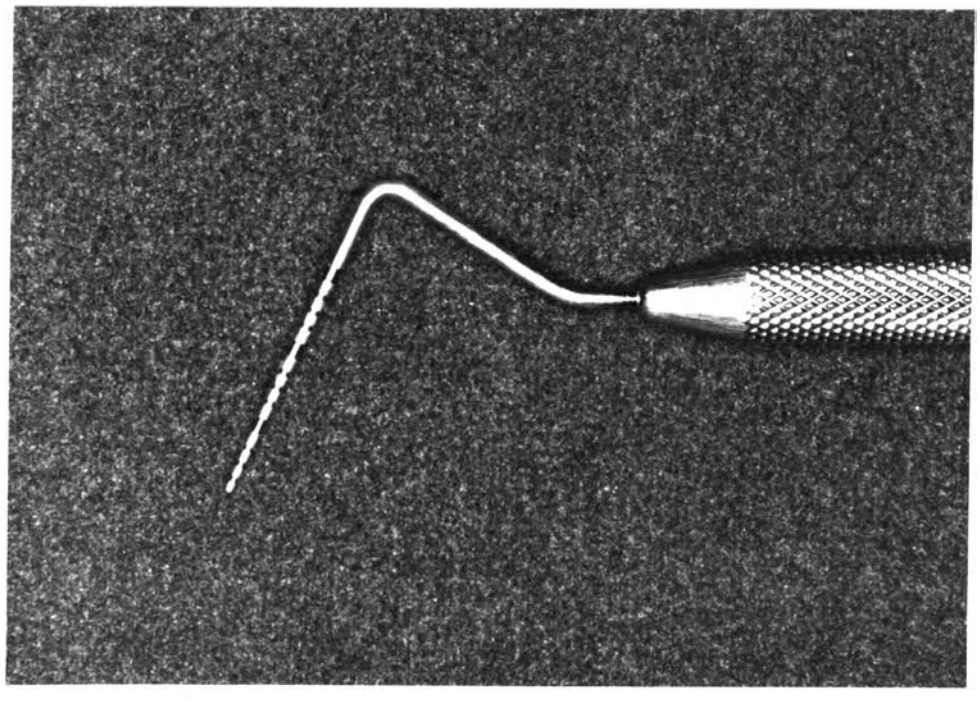
- ฟันรากเดียวที่มีร่องลึกปริทันต์ลึกมากที่สุดของจตุภาคนั้น แบ่งเป็นกลุ่มควบคุม 16 ซี่ และกลุ่มทดลอง 16 ซี่ โดยอยู่ต่างจตุภาคกัน และควรที่จะมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันแต่กระทำไม่ได้ในทางปฏิบัติ
- ในกรณีที่มีฟันและด้านที่ต้องการซ้ำกันในจตุภาคเดียวกัน ให้ทำการสุ่มตัวอย่างโดยวิธีการจับสลาก

ตัวแปรของการวิจัย (Variables)

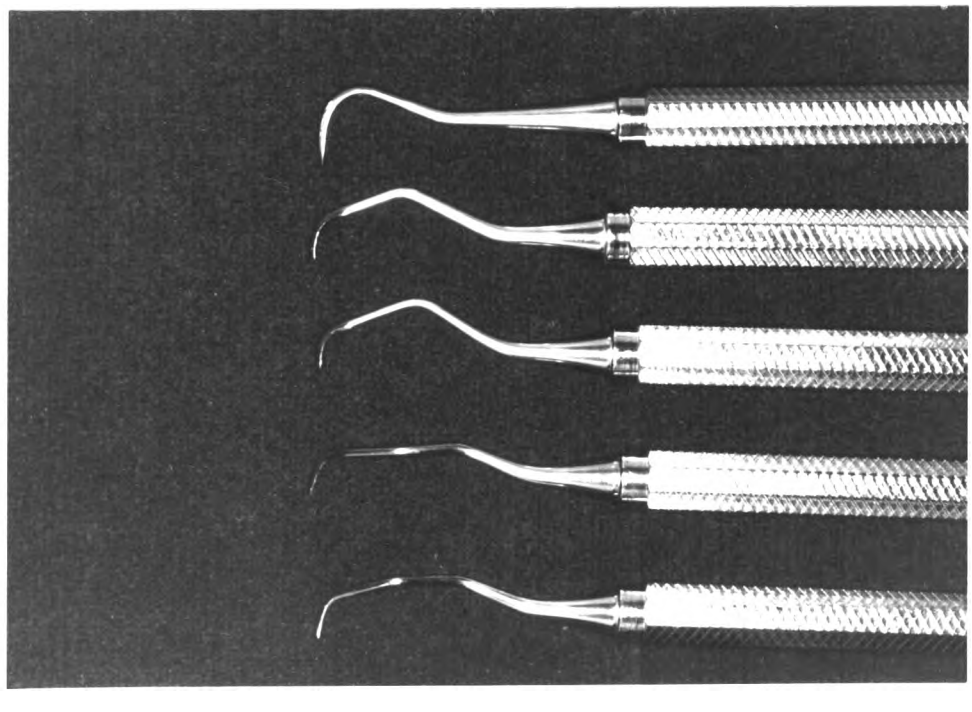
- ปริมาณและสัดส่วนประกอบของเชื้อแบคทีเรียในร่องลึกปริทันต์
- การตอบสนองลักษณะทางคลินิกของอวัยวะปริทันต์

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

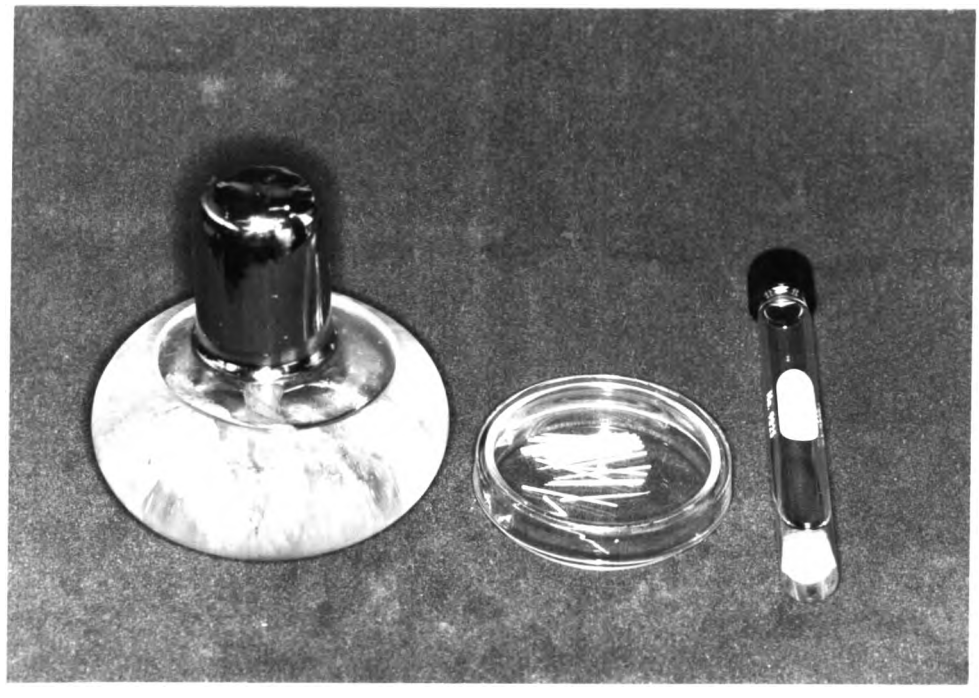
1. เครื่องมือตรวจปริทันต์ หรือโพรบ (Peridontal probe) ชนิด PCPUNC 15 ของ Hu Friedy



2. เครื่องมือขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน

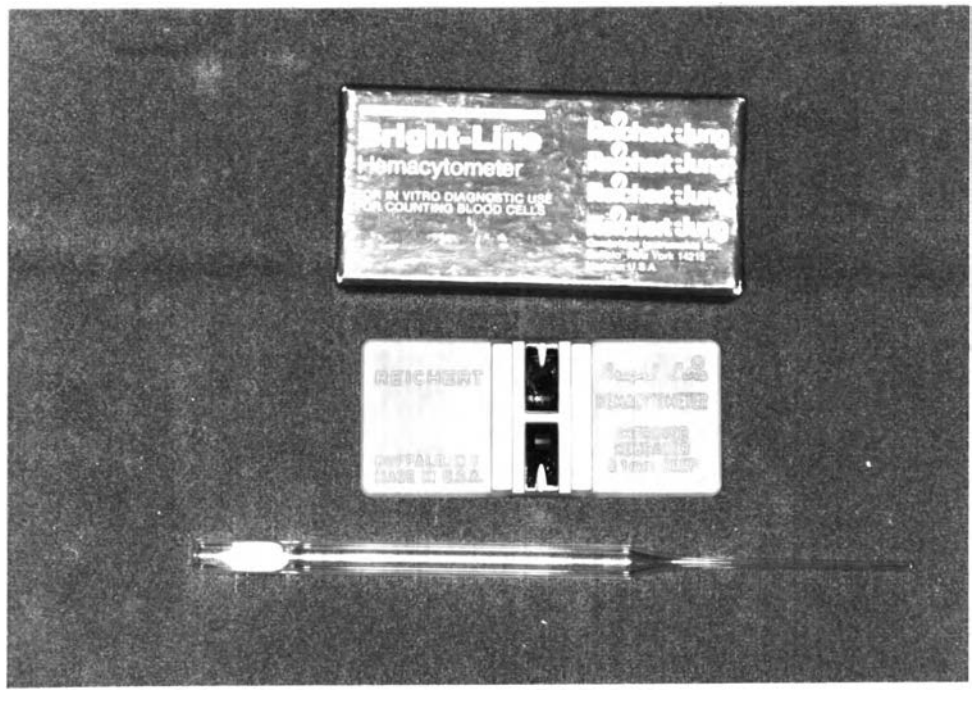


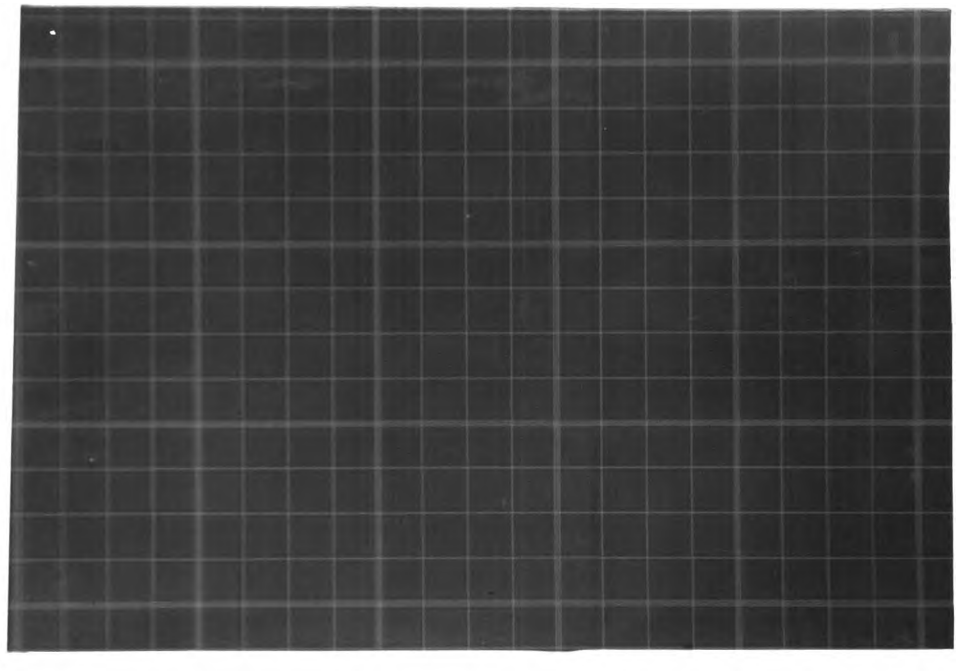
3. เครื่องมือในการเก็บตัวอย่างเชื้อในร่องลึกปริทันต์ ประกอบด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์, แท่งกระดาษซับขนาด S, อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง



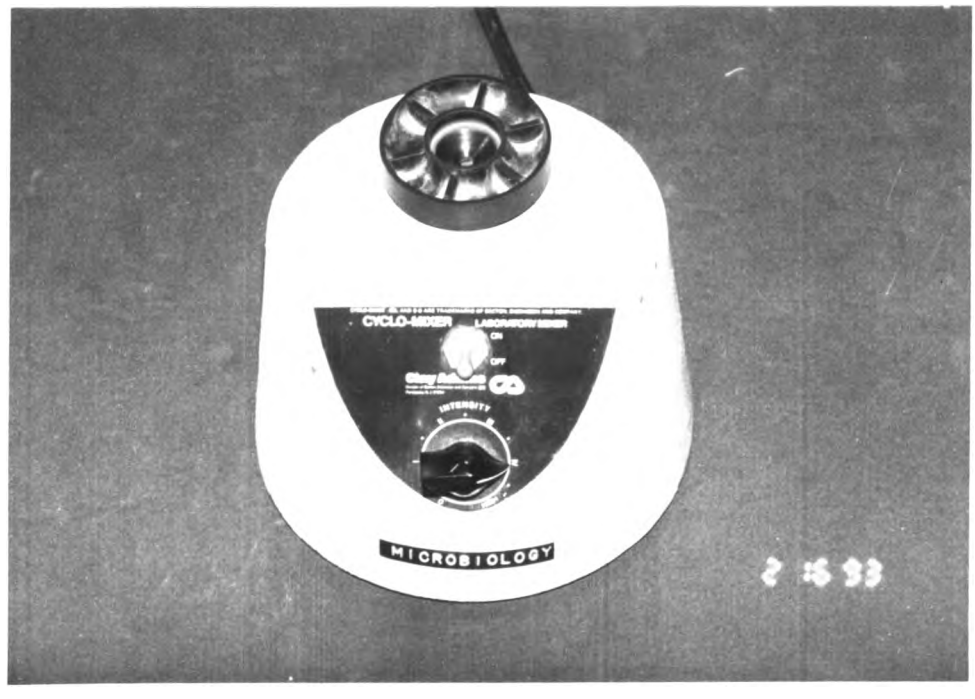
4. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดเฟส-คอนทราสท์

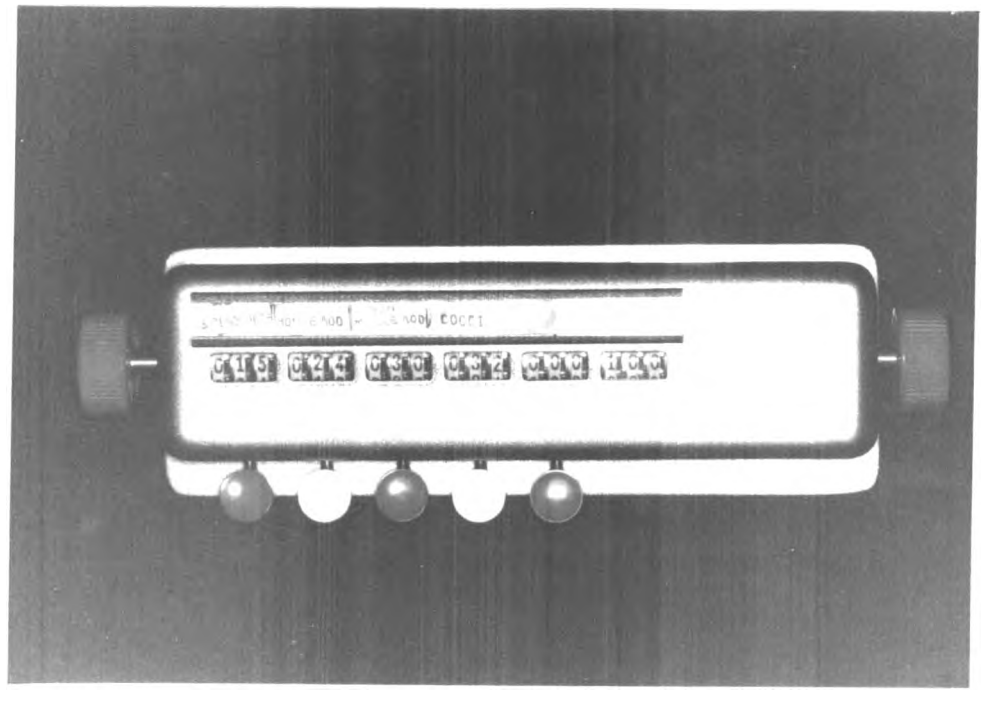
5. Bright line hemacytometer (Cambridge Instrument Inc. NY. USA)





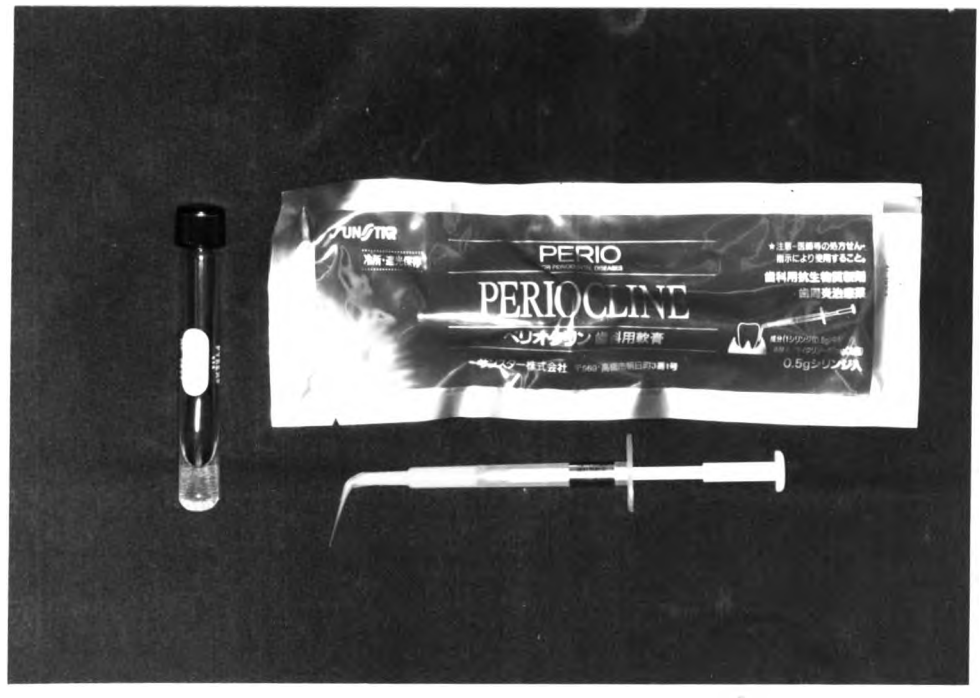
6. อื่น ๆ ได้แก่ เครื่องสั่นสะเทือนและเครื่องนับ

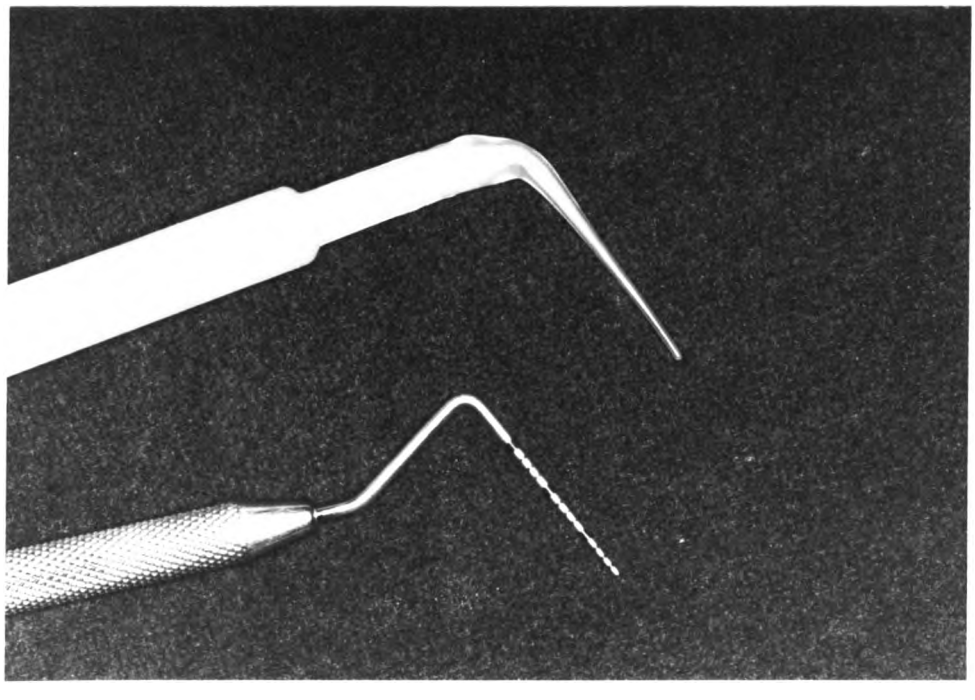




สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง, ยา Periocline





การรวบรวมข้อมูล

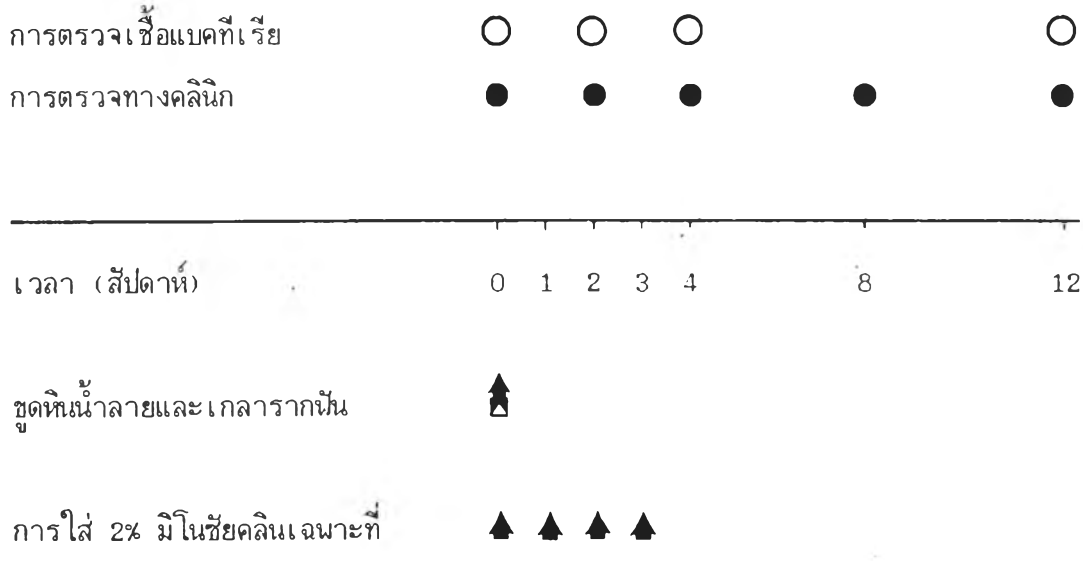
1. ทำการเลือกคนไข้ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบของภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 16 คน

2. บันทึกประวัติ และสภาวะปริทันต์ตามแบบบันทึกของภาควิชา

3. สอนการดูแลการรักษาอนามัยช่องปาก

4. ขูดหินน้ำลายเหนือเหงือก และขัดฟันด้วยหัวยางและผงขัด

5. เลือกซี่ฟันตัวอย่าง แบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยใช้วิธีการสุ่มแบบ Block randomization



การตรวจทางคลินิก

หลังจากคัดเลือกฟันตัวอย่างได้แล้ว ทำการตรวจทางคลินิกซึ่งประกอบด้วย

- ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (Plaque Index) ของ Silness และ Loe (1967)
- ดัชนีเหงือกอักเสบ (Gingival Index) ของ Loe และ Silness (1963)
- ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (Probing pocket depth)
- ระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (Attachment level)

การตรวจเชื้อแบคทีเรียโดยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดเฟส-คอนเทราสท์

เก็บตัวอย่างเชื้อโดยจะเลือกจากด้านที่มีร่องลึกปริทันต์มากที่สุดของฟันตัวอย่างนั้น โดยมีขั้นตอนดังนี้

7.1 ใช้สำลีเช็ดคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือกออกให้หมด

7.2 สอดแท่งกระดาษซับเข้าไปในร่องลึกปริทันต์ตัวอย่างจนรู้สึกต้านมือหรือกระดาษงอ

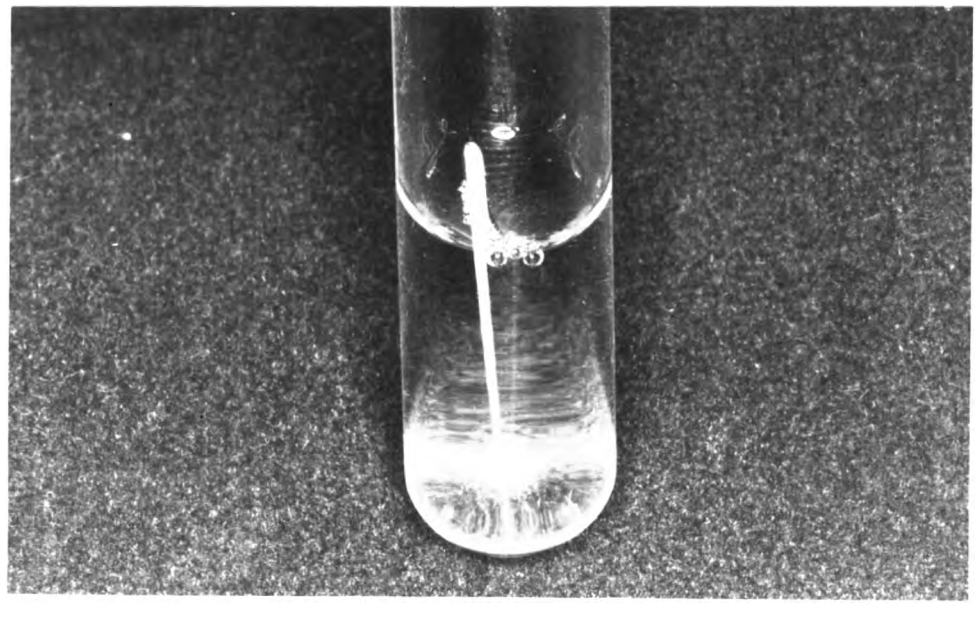
7.3 ปล่อยทิ้งไว้ 60 วินาที จากนั้นนำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร

อาหารเลี้ยงเชื้อ (Kazue, 1982) ประกอบด้วย

Brain heart infusion agar	18.5 กรัม
Agar granulated	500 มิลลิกรัม
L-cystein-HCl.H_2O	250 มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	500 มิลลิลิตร

ละลายโดย water bath (95° c)

ใส่หลอด 2 มิลลิลิตร, Autoclave

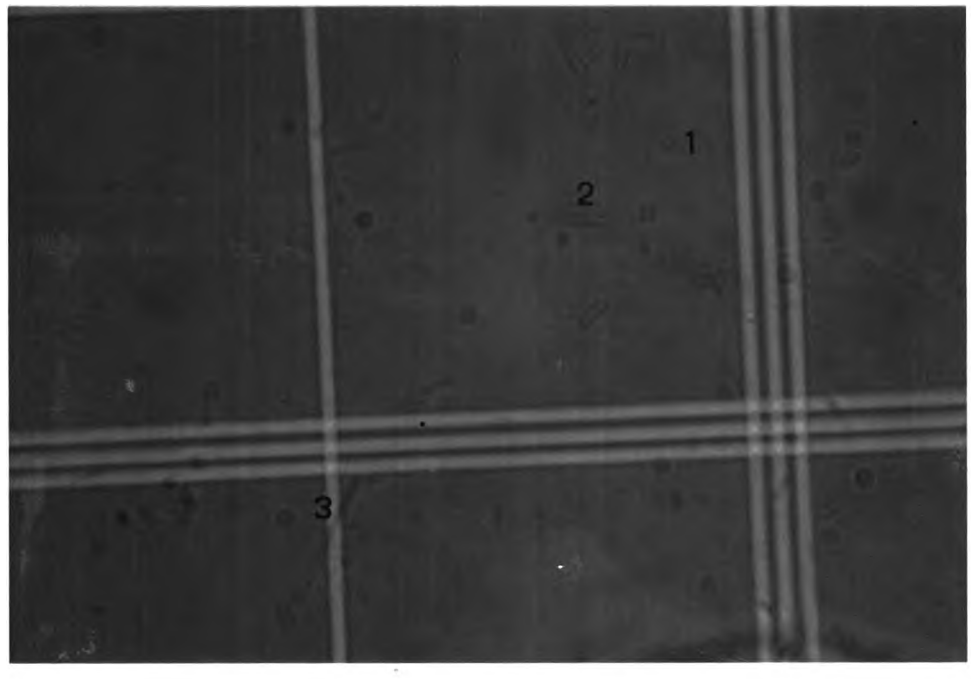


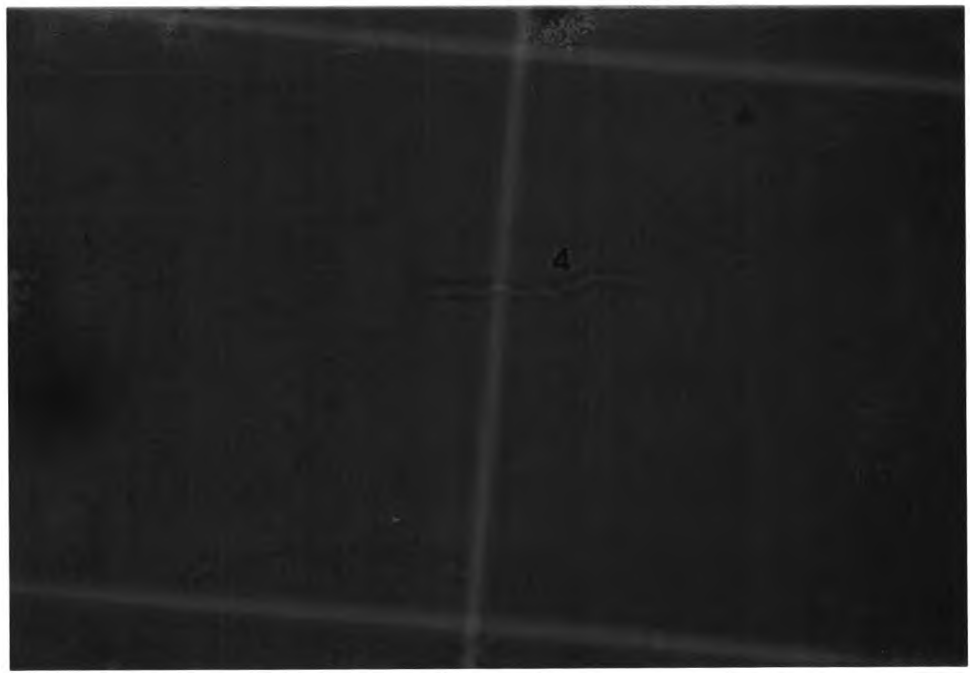
7.4 นำไปสั่นด้วยเครื่องสั่นสะเทือน เป็นเวลา 60 วินาทีที่ความถี่สูงสุด เพื่อทำให้เชื้อกระจายตัว (Ciancio และคณะ, 1982)

7.5 นำตัวอย่างมาเตรียมใน Bright line hemacytometer เพื่อศึกษาปริมาณและสัดส่วนของเชื้อโดยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดเฟส-คอนทราสท์ กำลังขยาย 1,000 เท่า โดยต้องทำให้เสร็จสิ้นโดยเร็ว เพื่อป้องกันการเกาะกลุ่ม (Clumping) และความผิดพลาดที่เกิดจากการตายของเชื้อที่เคลื่อนไหวได้ (loss of bacterial motility) (Listgarten และ Hellden, 1978)

7.6 แบ่งเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาออกเป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะรูปร่างของเชื้อ (morphotype) คือ

1. เชื้อแบคทีเรียรูปกลม (cocci)
2. เชื้อแบคทีเรียรูปแท่งเคลื่อนที่ไม่ได้ (non-motile rod)
3. เชื้อแบคทีเรียรูปแท่งเคลื่อนที่ได้ (motile rod)
4. เชื้อสไปโรชีท (spirochete)





การเก็บตัวอย่างเชื้อจะเก็บภายหลังการตรวจดัชนีคราบจุลินทรีย์ แต่จะกระทำก่อนการตรวจลักษณะทางคลินิกอื่น ๆ เพื่อป้องกันการรบกวนต่อเชื้อในร่องลึกปริทันต์

การให้การรักษาในฟันตัวอย่าง

8.1 ขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันในฟันตัวอย่าง และฟันชี่ข้างเคียง ข้างละ 1 ซี่

8.2 ใส่ยา Periocline รอบซี่ฟันในกลุ่มทดลอง

8.3 นัดผู้ป่วยมาใส่ยา และทำการตรวจผลทางคลินิกและตรวจเชื้อตามกำหนดในตารางที่แสดงไว้จนครบ 3 เดือน