ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรค็อกคัส ฟีคัลลิสภายในคลองรากฟันของระบบฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ และคลอร์เฮกซีดิน เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (การศึกษานอกกาย)

Antimicrobial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, 2.5% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* in Infected Human Root Canals (In vitro study)

สมชาย กิตติโชควัฒนา

Somchai Kittichokwatana

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Oral Health Sciences
Prince of Songkla University
2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรค็อกคัส ฟีคัลลิสภายในคลองรากฟันของระบบฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ และคลอร์เฮกซีดีน เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (การศึกษานอกกาย)

ผู้เขียน นายสมชาย กิตติโชควัฒนา

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ดร.เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา จิตภักดีบดินทร์)

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญรัตน์ สัตพัน)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชลธชา ห้านิรัติศัย)

.....กรรมการ

(ดร.เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา จิตภักดีบดินทร์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญรัตน์ สัตพัน)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพิศ ดินทรักษ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเอ็นเทอโรค็อกคัส ฟีคัลลิสภายในคลองรากฟันของระบบฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ และคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (การศึกษานอกกาย)

ผู้เขียน นายสมชาย กิตติโชควัฒนา

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2551

บทคัดย่อ

แบคทีเรียเป็นสาเหตุที่สำคัญต่อการเกิดโรคโพรงประสาทฟันอักเสบและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันอักเสบ การกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันมีข้อจำกัด เช่น ความสลับซับซ้อนของคลองรากฟัน หรือความสามารถของแบคทีเรียที่ทนต่อสารเคมีต่างๆได้ เป็นต้น จึงมีความพยายามหาวิธีและเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟัน ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้นเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันได้

วัตถุประสงค์: เปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟัน ระหว่างระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 คลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และการใช้ร่วมกันระหว่างระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น กับ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 หรือคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2

วิธีการและวัสดุ: เตรียมฟันมนุษย์คลองรากเดียวจำนวน 62 ซี่ ทำการตัดตัวฟันให้เหลือรากฟันความยาวประมาณ 13 มิลลิเมตร หลังจากนั้นทำการเตรียมคลองรากฟันด้วยระบบ Profile® นำฟันที่เตรียมได้ทำการปราศจากเชื้อและทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการแบ่งฟันเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยในกลุ่มควบคุมแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มควบคุมลบ 2 ซี่ และกลุ่มควบคุมบวก (ล้างด้วยน้ำเกลือ) 10 ซี่ ส่วนในกลุ่มทดลองแบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ซี่ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (PAD) กลุ่มที่ 2 คือ ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 กลุ่มที่ 3 ล้างด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 กลุ่มที่ 4 ใช้ PAD ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 กลุ่มที่ 5 PAD ร่วมกับคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 กลุ่มที่ 6 ล้างด้วยน้ำเกลือ (กลุ่มควบคุมบวก) ทำการประเมินปริมาณเชื้อก่อนล้างคลองรากฟันและหลังล้างคลองรากฟันที่ 24

ชั่วโมงโดยใช้กระดาษซับคลองรากฟัน นอกจากนี้จะทำการสุ่มฟันกลุ่มละ 2 ซี่เพื่อดูลักษณะพื้นผิวภายในคลองรากฟันโดยกล้องจุลทรรศ์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) นำข้อมูลปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ Kruskal-wallis ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 และบรรยายลักษณะภาพถ่ายจาก SEM

ผลการทดลอง: ในกลุ่มที่1 คือ ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้นไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2 คลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 66.7 และร้อยละ 86.6 ตามลำดับ) การใช้ร่วมกันระหว่างระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น กับ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 หรือคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ไม่สามารถส่งเสริมให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ดีขึ้น

สรุป: ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้นไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในขณะที่โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถลดปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่อยู่ในคลองรากฟันได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้นในงานรักษาคลองรากฟันเพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันอาจจะต้องมีการอธิบายต่อไปในอนาคต

Thesis Title	Antimicrobial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, 2.5% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* in Infected Human Root Canals (In vitro study)
Author	Mr. Somchai kittichokwatana
Major Program	Oral Health Sciences
Academic Year	2008

ABSTRACT

Introduction: Bacterial infection is the primary cause of pulpitis and apical periodontitis. The elimination of bacteria in root canals is challenging due to the complexity of root canal system and resistance of some bacteria. Presently, several techniques and chemical agents have been developed. Photo-Activated disinfection is possibly one of the effective mean for root canal disinfection.

Objectives: To compare the antimicrobial effect of Photo-Activated Disinfection (PAD), 2.5% Sodium hypochloride, 2% Chlorhexidine and combined PAD with 2.5% Sodium hypochloride or 2% Chlorhexidine on elimination *E. faecalis* in the root canal.

Materials and Methods: Sixty-two single rooted human teeth were prepared and contaminated with *E faecalis*.The roots were divided into negative control (uninfected) (n=2), positive control (NSS) (n=10) and 5 groups (n=10). The experimental root canals were subjected to either PAD, 2.5% NaOCl, 2% CHX, 2.5% NaOCl + PAD and 2.0% CHX + PAD. After treatment, all roots were incubated for 24 hr. The canal contents were sampled with sterile paper points, serially diluted, and cultured to determine the number of colony-forming units (CFU). Surface topography and biofilm formation after irrigation for 24 hr. were analyzed by scanning electron microscopy (SEM).

Results: Treatment of root canals with PAD did not significantly reduce the number of *E.faecalis*. Irrigation with 2.5% NaOCl, 2% CHX caused a significant reduction of the bacterial (66.7% and 86.8%, respectively). The combination of PAD with either 2.5% NaOCl or 2% CHX irrigation did not improve the efficacy in *E.faecalis* elimination.

Conclusion: PAD did not efficiently eliminate *E.faecalis* whereas 2.5% NaOCl

and 2% CHX significantly reduced the bacterial load in the root canal.Therefore, to apply PAD in endodontic treatment an optimal condition for PAD usage in root canal disinfection may need to be further determined.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ทพญ.ดร. เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์ ผศ. ทพญ. ดร. สุวรรณา จิตภักดีบดินทร์ ผศ.ทพญ. บุญรัตน์ สัตพัน ผู้ซึ่งให้ความกรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ให้ความรู้และคำปรึกษาแนะนำเกี่ยวกับการทำวิจัยตลอดจนสละเวลาตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีตลอดจนอาจารย์ภาคทันตกรรมอนุรักษ์ทุกท่าน

ข้าพเจ้าขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ที่เป็นผู้ให้ทุนอุดหนุนวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอขอบคุณโรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งเป็นโรงพยาบาลต้นสังกัดที่สนับสนุนให้ข้าพเจ้าได้ลาศึกษาต่อ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยาช่องปากและระบบการบดเคี้ยว คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่อนุเคราะห์ในการทำวิจัย และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาช่องปากทุกท่านที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัย โดยเฉพาะนางบรรเจิด ยะพงศ์ และขอขอบคุณผู้ช่วยทุกท่านที่มิได้กล่าวนาม ณ ที่นี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่ๆ ผู้สนับสนุนในทุกด้านและเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา

สมชาย กิตติโชควัฒนา

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการรูป	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การทบทวนวรรณกรรม	1
วัตถุประสงค์	18
2 วิธีการวิจัย	19
1. การเตรียมฟัน	22
2. การเตรียมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis*	23
3. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟัน	25
4. การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิด	25
5. การเก็บตัวอย่างและการวัดปริมาณเชื้อ	27
6. การเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยด้วยกล้องจุลทรรศน์-อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	28
7. การวิเคราะห์ข้อมูล	29
3 ผลการวิจัย	31
กลุ่มควบคุมลบ	31
การวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันแต่ละกลุ่ม	31
ลักษณะพื้นผิวของผนังคลองรากฟันภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	34
4 บทวิจารณ์	38
5 บทสรุป	48
เอกสารอ้างอิง	49

หน้า

ภาคผนวก 58

ประวัติผู้เขียน 65

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1	ตัวอย่างการศึกษาที่รายงานความชุกของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันมาแล้วร่วมกับการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน	3
2	เปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในแต่ละกลุ่ม โดยปริมาณเชื้อถูกปรับเปลี่ยนเป็นค่าล็อกฐานสิบ	33
3	ค่า OD และปริมาณเชื้อแบคทีเรียในการศึกษานำร่อง	46
4	การกระจายข้อมูลของแบคทีเรียตั้งต้นก่อนการล้างคลองรากฟัน (S1) ด้วยวิธีทดสอบ One Sample Kolmogorov-Smirnov test	58
5	ทดสอบความเป็นแบบเดียวกันของความแปรปรวนก่อนการล้างคลองรากฟัน (S1) ในแต่ละกลุ่ม	58
6	ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มก่อนล้างคลองรากฟัน	58
7	การกระจายข้อมูลของแบคทีเรียหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) ด้วยวิธีทดสอบ One Sample Kolmogorov-Smirnov test	60
8	ทดสอบความเป็นแบบเดียวกันของความแปรปรวนหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) ในแต่ละกลุ่ม	60
9	ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง โดยใช้สถิตินอน-พารามิเตอร์ วิธี Kruskal-Wallis test	61
10	ทดสอบความแตกต่างภายในกลุ่มก่อนล้างคลองรากฟันและหลังล้างคลองรากฟัน และให้มีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมงลด้วยสถิติวิธี Wilcoxon signed Rank	62
11	ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย Log ปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังล้างคลองรากฟันและมีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ (S2) ของแต่ละกลุ่มด้วย multiple comparison วิธี Non –Parametric Tukey-Type	63

รายการรูป

รูป		หน้า
1	โครงสร้างโมเลกุลของคลอร์เฮ็กซิดีน	6
2	โครงสร้างทางเคมีของโทโลเนียมคลอไรด์	11
3	หลักการของ Photodynamic therapy	12
4	การเปรียบเทียบผล a.) ก่อนใช้ PAD b.) หลังใช้ PAD แสดงถึงการแตกตัวของแบคทีเรีย	13
5	โครงสร้างของผนังเซลล์ a.) แบคทีเรียกรัมบวก b.) แบคทีเรียกรัมลบ	14
6	กลไกการทำงานของสารไวแสงเมื่อจับกับ microbial cell	16
7	ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection : PAD) ประกอบด้วย (a) แหล่งกำเนิดแสง (b) laser tip สำหรับงานเอ็นโดดอนติกส์ และ (c) สารละลายโทโลเนียมคลอไรด์	20
8	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Enterococus faecalis*	23
9	ขั้นตอนการเตรียมปริมาณเชื้อโดยวิธีการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียโดยการเจือจางเชื้อลงทีละ 10 เท่า	24
10	การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในคลองรากฟัน	25
11	การใช้งาน PAD ในคลองรากฟัน โดยใส่ laser tip ในคลองรากฟัน (a) ทำการฉายแสงเลเซอร์ในคลองรากฟัน (b) พลังงานแสงที่ผ่านในคลองรากฟัน (c)	27
12	กระดาษซับคลองรากฟัน ProTaper® ขนาด F2	28
13	ลักษณะฟันหลังถูกแบ่ง (split) ในแนวตัดตามขวาง (cross section) และแนวยาว (longitudinal section)	29
14	ขั้นตอนการทดลอง	30
15	แผนภูมิเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลอกาลิทึมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนและหลังการล้างคลองรากฟัน	32
16	ลักษณะผนังคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมลบ กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	34
17	ลักษณะคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมบวก กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	34

รายการรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
18	ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 1 PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	35
19	ลักษณะผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 2 2.5%NaOCl กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	35
20	ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 3 2.0%CHX กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	36
21	ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 4 2.5%NaOCl+PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	36
22	ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 5 2.0%CHX+PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)	37
23	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในการศึกษาของ Foschi และคณะ[90] a .) ลักษณะของเชื้อ *Enterococcus faecalis* บนผนังคลองรากฟันหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน b.) ลักษณะผนังคลองรากฟันหลังใช้ PAD และล้างด้วย Brain heart infusion broth	41
24	ลักษณะพื้นผิวคลองรากฟันหลังล้างคลองรากฟันด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในการศึกษานำร่อง	45

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แบคทีเรียเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เนื้อเยื่อในโพรงฟันตายและเกิดพยาธิสภาพรอบรากฟัน (pulp necrosis and periradicular pathology) [1, 2] ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการรักษาคลองรากฟันเพื่อป้องกันและกำจัดการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในคลองรากฟัน อัตราความสำเร็จในการรักษาคลองรากฟันที่ได้มีการรายงานไว้ประมาณร้อยละ 74 ถึง 96[3, 4] และสาเหตุสำคัญที่ทำให้การรักษาคลองรากฟันล้มเหลว คือ การมีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากการกำจัดแบคทีเรียให้หมดไปจากระบบคลองรากฟันที่มีลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ที่ซับซ้อนทำได้ยาก หรืออาจเกิดจากความสามารถในการคงอยู่ของจุลชีพ และการปนเปื้อนซ้ำ (recontamination) จากแบคทีเรียที่เกิดขึ้นหลังจากการอุดคลองรากฟันและการบูรณะฟันที่ไม่ดี[5, 6] ดังนั้นจึงมีความพยายามในการหาวิธีและสารเคมีที่มีประสิทธิภาพมากำจัดแบคทีเรียเพื่อหวังให้เกิดความสำเร็จในการรักษาคลองรากฟันมากยิ่งขึ้น

การทบทวนวรรณกรรม

ความล้มเหลวที่เกิดขึ้นในงานรักษาคลองรากฟันส่วนใหญ่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการกำจัดเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้จึงมีความสำคัญ ในปัจจุบันมีเทคนิคและน้ำยาล้างคลองรากฟัน (root canal irrigants) ชนิดใหม่เกิดขึ้นมากมาย การได้มาซึ่งข้อมูลเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียเป็นสิ่งจำเป็น เพราะสามารถนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการตัดสินใจในการเลือกใช้เทคนิคและน้ำยาล้างคลองรากฟันที่เหมาะสม

ในการทบทวนวรรณกรรมของการศึกษานี้จะกล่าวถึงแบคทีเรีย รายละเอียดของเทคนิคและชนิดของน้ำยาล้างคลองรากฟันที่เกี่ยวข้อง

เชื้อ *Enterococcus faecalis* (เอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส)

เชื้อ *Enterococcus faecalis* เป็นแบคทีเรียชนิดกรัมบวกรูปกลมสามารถมีชีวิตอยู่

ได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน จัดเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ซึ่งพบได้โดยทั่วไปในช่องปาก และระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อในมนุษย์ที่เกิดจากการติดเชื้อกลุ่มเอ็นเทอโรค็อกคัล (enterococcal species) พบว่าเป็นเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ถึงร้อยละ 80 ถึง 90[12] ในทางการแพทย์พบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infections) ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการรักษาเพราะว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายๆชนิด ในทางวิศวกรรมอาหาร (food engineering) และการควบคุมสิ่งแวดล้อมมักใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* เป็นตัวบ่งชี้ต่อการปนเปื้อน (fecal contamination) ในอาหารและน้ำ ส่วนในทางวิทยาเอ็นโดดอนต์มักพบเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้น้อยในกรณีที่เป็นเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันอักเสบแบบปฐมภูมิ (primary apical periodontitis) แต่จะพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับฟันที่มีความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันร่วมกับการเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน ดังตารางที่ 1

สาเหตุที่มักพบเชื้อ *Enterococcus faecalis* มีความสัมพันธ์กับฟันที่มีความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน อาจเป็นได้ว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* สามารถทนต่อยาที่ใส่ในคลองรากฟัน (root canal medicament) [13-15] และน้ำยาล้างคลองรากฟัน เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite)[16] มีการศึกษาที่สนับสนุนโดย Moller และคณะ[17] ทำการศึกษาในลิงโดยทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน โดยแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน กับ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดกรัมบวกรูปกลมใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต พบว่าสายพันธุ์แบคทีเรียชนิดกรัมบวกรูปกลมใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตสามารถทนต่อการรักษาคลองรากฟันได้ดีกว่าสายพันธุ์แบคทีเรียชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งสอดคล้องกับสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่สัมพันธ์กับความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* สามารถอยู่เดี่ยวๆได้โดยไม่ต้องอาศัยแบคทีเรียตัวอื่นๆ (อ้างอิงจาก Eldeniz[18]) และสามารถที่จะเจริญและเกาะติดกับคอลลาเจนอยู่ในท่อเนื้อฟัน (dentinal tubules) ได้[19] ทำให้เชื้อนี้สามารถต้านทานหรือรอดพ้นจากการกำจัดเชื้อในการรักษาคลองรากฟันปกติ ซึ่งอาจรวมไปถึงการทำความสะอาดด้วยไฟล์ (Files) ร่วมกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อตลอดจนสารเคมีอื่นๆที่ใส่ในคลองรากฟัน จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้การศึกษาที่ส่วนใหญ่เน้นถึงการค้นหาวิธีการกำจัดเชื้อชนิดนี้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการศึกษาที่รายงานความชุกของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันมาแล้วร่วมกับการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน (ดัดแปลงจาก Rôças และคณะ[20])

การศึกษาของ	วิธีการระบุเชื้อ (Identification method)	Number of root-filled teeth in study/ Number of root-filled teeth with bacteria growth	Number of root-filled teeth with *E. faecalis*	ความชุกของโรค Prevalence (%)
Engström 1964	Culture	54/21	5	24
Möller 1966	Culture	264/120	34	28
Molander et al. 1998	Culture	100/68	32	47
Sundqvist et al. 1998	Culture	54/24	9	38
Peciuliene et al. 2000	Culture	25/20	14	70
Peciuliene et al. 2001	Culture	40/33	21	64
Hancock et al. 2001	Culture	54/33	10	33
Pinheiro et al. 2001	Culture	60/51	27	53
Pinheiro et al. 2003	Culture	30/24	11	46
Siqueira & Rôças 2004	PCR	22/22	17	77
Gomes et al. 2004	Culture	19/19	6	32
Rôças et al. 2004	PCR	30/30	20	67
Brenda et al 2006	PCR	50/50	38	76
	Culture	50/50	21	42

หลักการกำจัดเชื้อในคลองรากฟัน

การกำจัดเชื้อแบคทีเรียในคลองรากฟันทำได้โดยการทำความสะอาดและการแต่งคลองรากฟัน (cleaning and shaping) ร่วมกับการใส่ยาในคลองรากฟัน การเตรียมคลองรากฟันโดยเครื่องมือที่ใช้ในการรักษาคลองรากฟันเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ Bystrom และ Sundqvist[21] พบว่า mechanical instrument (MI) สามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่อยู่ในคลองรากฟันได้ แต่ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ในคลองรากฟันได้หมด โดยแบคทีเรียที่ยังหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันสามารถเจริญเติบโตกลับขึ้นมาใหม่ได้ในภายหลัง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยคุณสมบัติทางเคมี

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่หลงเหลือในคลองรากฟัน คุณสมบัติทางเคมีนั้นได้จากประสิทธิภาพของน้ำยาล้างคลองรากฟันและยาที่ใส่ในคลองรากฟัน

น้ำยาล้างคลองรากฟัน

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าสารเคมีตัวใหม่ๆมากมายเพื่อจะได้มาซึ่งน้ำยาล้างคลองรากฟันในอุดมคติ [22, 23] ควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย สามารถสลายเนื้อเยื่อที่มีชีวิตหรือเนื้อเยื่อที่ตาย (vital and necrotic tissue) ช่วยในการหล่อลื่นในคลองรากฟัน กำจัดชั้นสเมียร์ (smear layer) และไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อปกติ จากคุณสมบัติที่กล่าวมานั้น ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของน้ำยาล้างคลองรากฟันซึ่งปัจจุบันยังไม่มีน้ำยาล้างคลองรากฟันที่สามารถฆ่าเชื้อในคลองรากฟันได้หมด น้ำยาล้างคลองรากฟันที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนท (Chlorhexidine gluconate) เอ็มแทด (MTAD : Mixture of Tetracycline isomer an acid and a detergent) เป็นต้น

โซเดียมไฮโปคลอไรท์

ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 หรือที่รู้จักในชื่อสารละลายเดคิน (Dakin's solution) ได้ถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดแผล (อ้างอิงจาก Zehnder[24]) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้นมากจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากกว่าความเข้มข้นน้อยแต่อันตรายต่อเนื้อเยื่อจะยิ่งมากขึ้นด้วย[25] Estrela และคณะ[26] ได้กล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ซึ่งจะแตกตัวดังสมการที่เป็นดุลพลวัต (dynamic balance) ดังนี้

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

ส่วนสำคัญในการฆ่าแบคทีเรีย คือ hypochlorous acid (HOCl) และ hypochlorite ion (OCl^-) ซึ่งผลที่เกิดขึ้น คือ ทำให้เกิดการทำให้แตกสลาย (degradation) ของไขมันและโปรตีนของแบคทีเรียและพบว่า HOCl จะทำปฏิกิริยาคลอรามิเนชั่น (Chloramination reaction) กับกรดอมิโน (amino acid) ได้สารคลอรามีน (Chloramine) สารตัวนี้จะทำปฏิกิริยากับกลุ่มซัลฟูนิล (SH group) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอ็นไซม์ของแบคทีเรียทำให้แบคทีเรียไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ความเข้มข้น

ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้มีความหลากหลาย ความเข้มข้นยิ่งมากประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อก็จะยิ่งดีขึ้นไปด้วย[25, 27] ส่วนความเข้มข้นที่นิยมใช้กันมากในการล้างคลองรากฟันถูกแนะนำโดย Harty[28] ซึ่งแนะนำให้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 การศึกษาของ Siqueira และคณะ[29] พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 4 กับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ข้อคำนึงถึงการเลือกความเข้มข้นในการล้างคลองรากฟันไม่มีกฎเกณฑ์ตายตัวขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณเชื้อในคลองรากฟันของผู้ป่วยแต่ละรายมากกว่า ทั้งนี้จะต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นด้วยเสมอ

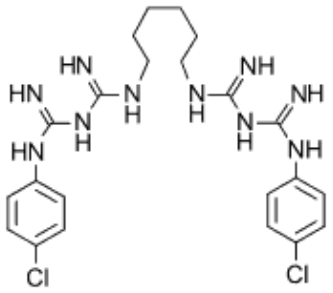
ข้อดีของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ คือ เป็นสารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent)[30, 31] สามารถละลายเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (pulp tissue) ได้ดี[32, 33] และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ยังมีคุณสมบัติเป็นสารหล่อลื่นเครื่องมือที่ใช้ในการขยายคลองรากฟัน ข้อเสียของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ คือ มีความระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน[34, 35] ไม่สามารถกำจัดชั้นสเมียร์ได้[24] กัดกร่อนโลหะ[36] และที่สำคัญโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในความเข้มข้นที่ต่ำไม่สามารถฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* จึงได้มีความพยายามที่จะพัฒนาเทคนิคและใช้ร่วมกับน้ำยาล้างคลองรากฟันตัวอื่นๆเพื่อหวังผลในการเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำยาล้างคลองรากฟันโดยพบว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ร่วมกับสารละลาย Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ซึ่งทำหน้าที่ดึงไอออนแคลเซียม (calcium ion) ของไฮดร็อกซี่แอ็พพาไทท์ (hydroxyapatite) เพื่อหวังผลในการละลายเนื้อฟันในส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ (inorganic tissue) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของชั้นสเมียร์

ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์พบว่ามีข้อจำกัด เห็นได้จากการศึกษาของ Olivera และคณะ[37] ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรท์และคลอร์เฮ็กซิดีนในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันมนุษย์ พบว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 หลังจากมีการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 7 วันพบว่าปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* กลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำกลั่น กรณีนำโซเดียมไฮโปคลอไรท์มาใช้จริงทางคลินิก จากการศึกษา Bystrom และSundqvist[13] เป็นการศึกษาในผู้ป่วยพบว่าหากใช้ EDTA ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* เพิ่มขึ้นกว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียว แต่พบว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้หมด

คลอร์เฮ็กซิดีน

นำมาใช้ในรูปแบบน้ำยาบ้วนปาก น้ำยาล้างใต้เหงือก (subgingival irrigant) เจล ยาสีฟัน และหมากฝรั่ง ต่อมาจึงนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน Mohammadi และAbbott[38] ได้สรุปในส่วนองค์ประกอบและกลไกการออกฤทธิ์ดังนี้

องค์ประกอบคลอร์เฮ็กซิดีนประกอบด้วย โมเลกุล 4-chlorophenyl ring 2 วง และกลุ่ม biquanide 2 กลุ่มเชื่อมตรงกลางด้วยสาย hexamethylene ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลของคลอร์เฮ็กซิดีน ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File: Chlorhexidine.png

โดยกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีน คือ คลอร์เฮ็กซิดีนมีประจุเป็นบวกจะมีโมเลกุลทั้งส่วนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และชอบลิพิด (lipophilic) โมเลกุลเหล่านี้สามารถจับกับฟอสโฟลิพิด (phospholipids) และลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharides) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียทำให้ไปรบกวนสภาพให้ซึมผ่านสารน้ำและยังส่งผลให้คลอร์เฮ็กซิดีนสามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ทำให้เซลล์แตก นอกจากนี้พบว่าคลอร์เฮ็กซิดินในความเข้มข้นต่ำ (ความเข้มข้นร้อยละ 0.2) ทำให้สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย โดยเฉพาะโปแตสเซียมและฟอสฟอรัสรั่วออกมานอกเซลล์ได้ แต่ในกรณีที่มีความเข้มข้นสูง (ความเข้มข้นร้อยละ 2) คลอร์เฮ็กซิดีนจะรวมตัวกับส่วนประกอบของไซโตพลาสมิกในเซลล์เกิดเป็นตะกอนจะส่งผลให้เซลล์ตายได้ จากการวัดค่าความเป็นกรดด่างของคลอร์เฮ็กซิดีน มีค่าประมาณ 5.5-7 (American Association of Health-System Pharmacists, 2003) คลอร์เฮ็กซิดีน มีคุณสมบัติเข้ากับเนื้อเยื่อชีวภาพได้ดี (biocompatibility)[25, 39] และฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของคลอร์เฮ็กซิดีนสามารถที่จะคงอยู่ได้[31, 40] โดยที่สามารถจับกับไฮดร็อกซี่แอ็พพาไทท์[41] สามารถคงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้นานถึง 72 ชั่วโมง[40] สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียกรัมบวกและแบคทีเรียกรัมลบ (gram positive bacteria and gram negative bacteria)[24] มีรายงานว่าคลอร์เฮ็ก

ซิดีนสามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้[42] แต่มีบางการศึกษาพบข้อจำกัดในการใช้คลอร์เฮ็กซิดีน โดยการศึกษาของ Portenier และคณะ[43] พบว่าผงเนื้อฟันและซีรั่มแอลบูมินของวัว (bovine serum albumin) มีผลในการยับยั้งประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ของคลอร์เฮ็กซิดีน นอกจากนี้คลอร์เฮ็กซิดีนไม่มีคุณสมบัติในการกำจัดชั้นสเมียร์[44] ทำให้เกิดคราบสีที่ผิวฟันถ้าใช้เป็นระยะเวลานาน และที่สำคัญคลอร์เฮ็กซิดีนไม่สามารถละลายเนื้อเยื่อในโพรงฟันได้[45] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ความเข้มข้นที่ใช้ในทางทันตกรรมมีมากมายขึ้นกับลักษณะของการเลือกใช้งาน แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน คือ คลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2[46]

จากการศึกษาของ Estrela และคณะ[47] เป็นการทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบ (systematic review) ถึงประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และคลอร์เฮ็กซิดีน พบว่าจาก 5 การศึกษาที่เป็นการศึกษาในผู้ป่วย จำนวนฟันทั้งหมด 159 ซี่พบเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนการกำจัดเชื้อด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) 16 ซี่ (ร้อยละ 10) และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 42 ซี่ (ร้อยละ 26.4) หลังกำจัดเชื้อแบคทีเรียพบเชื้อ *Enterococcus faecalis* จากวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) 11 ซี่ (ร้อยละ 6.9) และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 12 ซี่ (ร้อยละ 7.5) ให้ข้อสรุปว่าจากการประเมินด้วยวิธี PCR และการวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย พบว่าการใช้น้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และคลอร์เฮ็กซิดีนมีประสิทธิภาพน้อยในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* เมื่อนำมาใช้จริงทางคลินิก

เทคนิคการฆ่าเชื้อในคลองรากฟันที่น่าสนใจ

เนื่องจากประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของน้ำยาล้างคลองรากฟันยังมีข้อจำกัด จึงได้มีการคิดค้นและหาวิธีใหม่ๆเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากยิ่งขึ้น วิธีอื่นๆที่น่าสนใจ เช่น การบำบัดด้วยโอโซน (Ozone therapy)[48] เลเซอร์ (Laser)[49] น้ำโอโซเนท (Ozonate water)[50] ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated disinfection)[51] การกระตุ้นด้วยเคมีไฟฟ้า (electrochemically activated water : ECA) (อ้างอิงจาก El karim และคณะ[52]) เป็นต้น ในที่นี้จะเน้นไปที่การศึกษาในเรื่องของเลเซอร์ที่ใช้ในทางทันตกรรม

เลเซอร์ในงานวิทยาเอ็นโดดอนต์

คำว่า เลเซอร์ (LASER) ย่อมาจาก Light Amplification by the Stimulated

Emission of Radiation หมายถึง แสงที่ได้จากการกระตุ้นให้ตัวกลางไม่ว่าจะเป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซมีการแผ่รังสีออกมา แสงเลเซอร์มีลักษณะแตกต่างจากแสงชนิดอื่น คือ เป็นแสงสีเดียวกันทั้งหมด (monochromatic) มีพลังงานในช่วงความยาวคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าช่วงเดียว ทุกคลื่นจะขนานกันและเคลื่อนไปในทิศทางเดียวกัน (collimated) โดยมีการกระจายและการหักเหน้อยมาก ทำให้มีความเข้มของแสงสูงกว่าแสงธรรมดา คลื่นแสงแต่ละคลื่นที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสงเดินทางโดยมีความสัมพันธ์ต่อกันอย่างคงที่ และมีการสั่นพร้อมกัน การที่จะเรียกชื่อแต่ละชนิดของเลเซอร์นั้นจะเรียกชื่อตามชนิดของตัวกลาง เช่น เอ็นดีแยคเลเซอร์ (Nd:YAG Laser) คาร์บอนไดออกไซด์เลเซอร์ (CO_2 Laser) อาร์กอนเลเซอร์ (Argon Laser) เป็นต้น

ในการเลือกเลเซอร์แต่ละชนิดควรพิจารณาตามชนิดของเลเซอร์ในการประยุกต์ใช้ทางทันตกรรมเพื่อบำบัดรักษาซึ่งจะแบ่งได้ 3 ประเภทหลักๆ คือ[53]

1. การรักษาโดยใช้เลเซอร์ความเข้มสูง (High intensity laser therapy: HILT)

ในการใช้งานจะต้องใช้พลังงานที่สูงมักจะใช้ในการตัด โดยจะเลือกตัดในส่วนของเนื้อเยื่อแข็งหรือเนื้อเยื่ออ่อนได้ เช่น ในการตัดเหงือก การกรอเตรียมฟัน ห้ามเลือด เป็นต้น เลเซอร์ที่ใช้เช่น คาร์บอนไดออกไซด์เลเซอร์ เอ็นดี แย็คเลเซอร์ อาร์กอน เลเซอร์ เป็นต้น

2. การรักษาโดยใช้เลเซอร์ที่มีผลต่อเนื้อเยื่อแบบเจาะจง (Selective laser therapy: SELT)

คุณสมบัติของเลเซอร์ คือ ในสารที่ต่างชนิดกันสามารถดูดซับพลังงานของเลเซอร์ที่แตกต่างกันออกไป จึงสามารถควบคุมให้เลเซอร์ไปมีผลต่อสารนั้นได้โดยไม่มีผลต่อสารอื่น หลักการนี้จะแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ photodynamic therapy และ interstitial therapy ในการประยุกต์ใช้ทางทันตกรรมจะนำมาใช้ในการรักษาลิวโคเพลเคียในช่องปาก (oral leukoplakia) หรือใช้ในการฆ่าเชื้อในบริเวณต่างๆในช่องปากได้

3. การรักษาโดยใช้เลเซอร์ความเข้มข้นต่ำ (Low intensity laser therapy: LILT)

เป็นการนำเลเซอร์ที่มีพลังงานต่ำๆ โดยพลังงานที่ใช้ไม่เกิน 1 วัตต์ต่อพื้นที่ที่ฉายแสง เพื่อหวังผลในการกระตุ้นเนื้อเยื่อให้มีการทำงานได้ดีขึ้น โดยการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อเลเซอร์ความเข้มข้นต่ำสามารถแบ่งได้เป็นรูปแบบหลักๆ คือ การตอบสนองทางชีวเคมี (biochemical reaction) การตอบสนองทางการส่งกระแสไฟฟ้าชีวภาพ (bioelectrical reaction) และการตอบสนองทางพลังงานชีวภาพ (bioenergetical reaction) ซึ่งการตอบสนองที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นกับชนิดของเซลล์ ชนิดของเลเซอร์ที่ใช้ และความเข้มแสงของเลเซอร์

เลเซอร์ในทางวิทยาเอ็นโดดอนต์มีการใช้งานอย่างแพร่หลายในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการตรวจวินิจฉัยถึงการไหลของเลือดที่อยู่ในเนื้อเยื่อในโพรงฟัน การตัดเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (pulpotomy) การฆ่าเชื้อในคลองรากฟัน เป็นต้น หากกล่าวถึงการนำเลเซอร์ในการฆ่าเชื้อในคลองรากฟัน Moshonov และคณะ[54] ทำการศึกษาโดยใช้เลเซอร์เอ็นดีแยค (Nd-YAG laser) ในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* เปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ พิจารณาผลการทดลองจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* หลังการทดสอบและตรวจลักษณะผนังคลองรากฟันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด ผลการศึกษาพบว่าเลเซอร์เอ็นดีแยคสามารถฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้แต่หากเปรียบเทียบกับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์แล้วนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่ด้อยกว่าน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์

ปัจจุบันพบแล้วว่ามีการพัฒนาเลเซอร์ประเภทการรักษาโดยใช้เลเซอร์ที่มีผลต่อเนื้อเยื่อแบบเจาะจงรูปแบบของ Photoactivated disinfection ในทางทันตกรรมให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อในคลองรากฟันได้[51] จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

ที่มาและประโยชน์ของ Photoactivated disinfection

Raab O และคณะ (อ้างอิงมาจาก Jori[55]) พบว่ามีความเป็นไปที่จะใช้แสงในการยับยั้งโปรโตซัว (protozoa) ต่อมาในทางการแพทย์ Photodynamic therapy (PDT) ถูกนำมาใช้ครั้งแรกโดย von Tappeiner และ Jesionek ในปี ค.ศ. 1903 โดยนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง (อ้างอิงจาก Triesscheijn และคณะ[56]) และต่อมาในปี ค.ศ. 1904 von Tappeiner (อ้างอิงจาก Jori และคณะ[55]) ได้พบกลไกการทำงาน เรียกกลไกนั้นว่า “Photodynamic action” ซึ่งต่อมาเรียกกันหลายชื่อเช่น Photoactivated disinfection (PAD), Lethal photosensitization, Photodynamic therapy (PDT) เป็นต้น เป็นที่เข้าใจว่า PAD และ PDT มีหลักการเดียวกันซึ่งหากพูดถึง PDT จะครอบคลุมทั้งในส่วนของเซลล์ เช่น เซลล์มะเร็ง เป็นต้น โดยกลไกการทำงานจะต้องอาศัยเลเซอร์เป็นแหล่งพลังงานแสงร่วมกับสารไวแสง (photosensitizer) ซึ่งเป็นสารเคมีได้ reactive oxygen species : ROS โดย ROS สามารถทำอันตรายต่อเซลล์ร่วมกับระบบหลอดเลือด (blood vascular network) และยังมีส่วนในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งได้[56] ในศตวรรษที่ 20 เริ่มไม่ได้รับความนิยมเป็นเพราะว่าการใช้ยาปฏิชีวนะได้ผลที่ดีกว่าและได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย จนกระทั่งมีอุบัติการณ์การเกิด MRSA (methicillin resistant *Staphylococus aureus*) สูงขึ้นซึ่งมีผลจากการใช้ยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็นจนทำให้แบคทีเรียเกิดการดื้อยา โดยมีรายงานจากประเทศเยอรมันในปี

คศ.1980 พบผู้ป่วยในกลุ่มนี้น้อยกว่าร้อยละ 5 จนมาถึงปี คศ. 2001 ปี มีอุบัติการณ์การเกิดผู้ป่วย MRSA เพิ่มสูงถึงร้อยละ 20.7[57] จะเห็นได้ว่ามีอุบัติการณ์การดื้อยาที่สูงขึ้นจึงทำให้มีความระมัดระวังเรื่องการใช้ยาปฏิชีวนะมากยิ่งขึ้น ปัจจุบันจึงเริ่มหันมาสนใจในการทำลายเชื้อแบบเฉพาะที่มากขึ้น ซึ่งทำให้ PAD กลับมาเป็นที่สนใจอีกครั้ง โดยประโยชน์ของการเลือกใช้ PAD ในการฆ่าเชื้อจุลชีพนั้นมีดังนี้[55]

- มีฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียได้กว้าง (broad spectrum) เนื่องจากสารไวแสงสามารถมีฤทธิ์ต่อ แบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และ โพรโทซัว
- สามารถกำจัดจุลชีพที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ
- มีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาในส่วนเกณฑ์วิธีของ PDT ซึ่งจะนำไปสู่การลดจุลชีพก่อโรคอย่างมากโดยส่งกระทบผลต่อเนื้อเยื่อปกติได้น้อย
- มีโอกาศที่จะเกิด Photoresistant strain น้อยหลังจากที่ผ่านการรักษาด้วย PDT หลายครั้ง
- การกลายพันธุ์ของจุลชีพ (mutagenicity) เกิดขึ้นได้น้อย
- สามารถกำหนดให้สารไวแสง มีความจำเพาะต่อบริเวณที่มีการติดเชื้อได้

กลไกและหลักการทำงานของ Photo-Activated Disinfection

Photo-Activated Disinfection มีส่วนสำคัญ 2 ส่วน ดังนี้

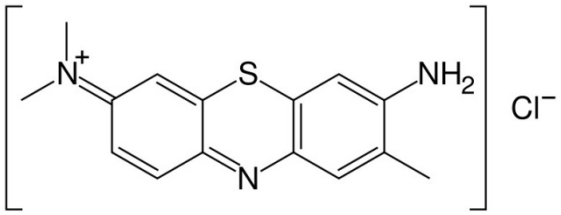
1). แหล่งกำเนิดแสง (light source) ในที่นี้ คือ เลเซอร์ซึ่งจะเป็นเลเซอร์พลังงานต่ำ ประสิทธิภาพในการใช้งานนั้นพบว่าขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นและพลังงานที่ใช้ โดยจะต้องเหมาะกับสารไวแสงที่เลือกนำมาใช้[58] ความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับโทโลเนียม คลอไรด์ (tolonium chloride) คือ 635 นาโนเมตร โดยที่แหล่งกำเนิดแสงเป็นไดโอดเลเซอร์ แต่หากแหล่งกำเนิดแสงเป็นฮีเลียม-นีออน เลเซอร์ (helium-neon laser) ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจะอยู่ที่ 632.8 นาโนเมตร ในส่วนของความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อปริทันต์นั้น จากการศึกษาของ Dicker และคณะ[59] ทำการศึกษาถึงอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการใช้ PAD ซึ่งเป็นระบบเดียวกันกับการศึกษานี้ โดยใช้ในงานรักษาคลองรากฟันพบว่าอุณหภูมิบริเวณผิวรากฟันด้านนอกมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นประมาณ 0.16±0.08 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิที่สามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อปริทันต์ (เพิ่มขึ้น 7 องศาเซลเซียส)[60] แสดงให้เห็นว่าความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการใช้ PAD ไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อปริทันต์รอบรากฟัน

2). สารไวแสง (Photosensitizer) ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีอยู่ในธรรมชาติและที่สังเคราะห์ขึ้นมามีมากมายหลายชนิดแต่ที่นิยมนำมาใช้ใน Photo-Activated Disinfecton มีดังนี้

- Tolonium chloride
- Methylene blue
- Azure dyes
- Crystal violet
- Hematoporphyrins
- Aluminum disulfonated phthalocyanine (ADP)
- Chlorins

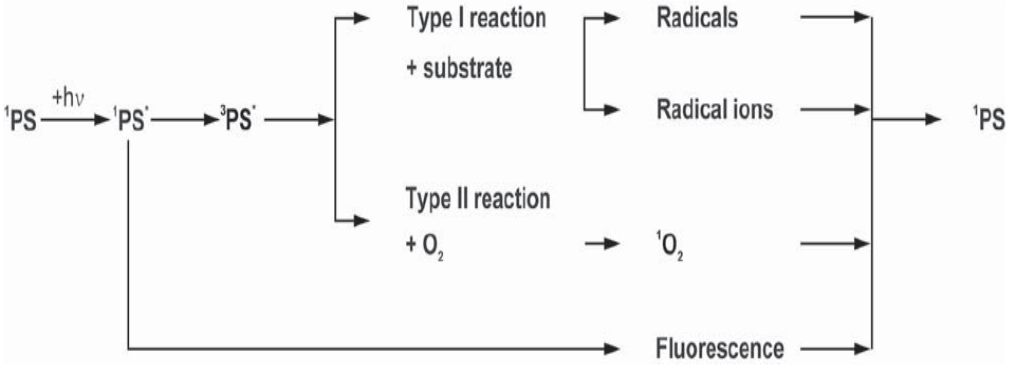
ในทางทันตกรรม สารไวแสงที่นิยม คือโทโลเนียมคลอไรด์ เพราะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียสำคัญๆที่เกี่ยวข้องในทางทันตกรรมได้อย่างครอบคลุม โทโลเนียมคลอไรด์มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2 จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ โทลูอิดีนบูล (toluidine blue) (pharmaceutical grade of Toluidine Blue O) โดยโทลูอิดีนบูลเป็นสาร cationic thiazine dye ของ phenothiazine family มีประโยชน์โดยนำมาใช้แยกรอยโรคมะเร็ง (cancer lesion) ในกาย (in vivo)[61, 62]

การใช้ประโยชน์ในทางทันตกรรมนั้นมีการใช้ในการตรวจหารอยโรคมะเร็งในช่องปาก[63] พบว่าสารโทโลเนียม คลอไรด์ สามารถฆ่าเชื้อทั้งเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ[64, 65] ความเข้มข้นโทโลเนียม คลอไรด์ที่ใช้ในทางทันตกรรมอยู่ที่ 13 ถึง 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 5.0 ถึง 5.5 ส่วนความปลอดภัยในการใช้งาน Komerik และคณะ[66] ทำการศึกษาผลของโทลูอิดีนบูลต่อเยื่อเมือกด้านแก้มของหนู โดยใช้ความเข้มข้นของโทลูอิดีนบูลสูงถึง 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้แสงที่มีพลังงานถึง 340 จูลต่อตารางเซ็นติเมตร พบว่าไม่มีอันตรายต่อเยื่อเมือกด้านแก้มของหนู การใช้โทลูอิดีนบูลในการฆ่าเชื้อแบบเฉพาะที่ในช่องปากจึงมีความปลอดภัย



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของโทโลเนียมคลอไรด์ ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Toluidine_blue

สารไวแสง มีกลไกการออกฤทธิ์อยู่ 2 วิถี คือ Type I pathway และ Type II pathway ดังรูปที่ 3

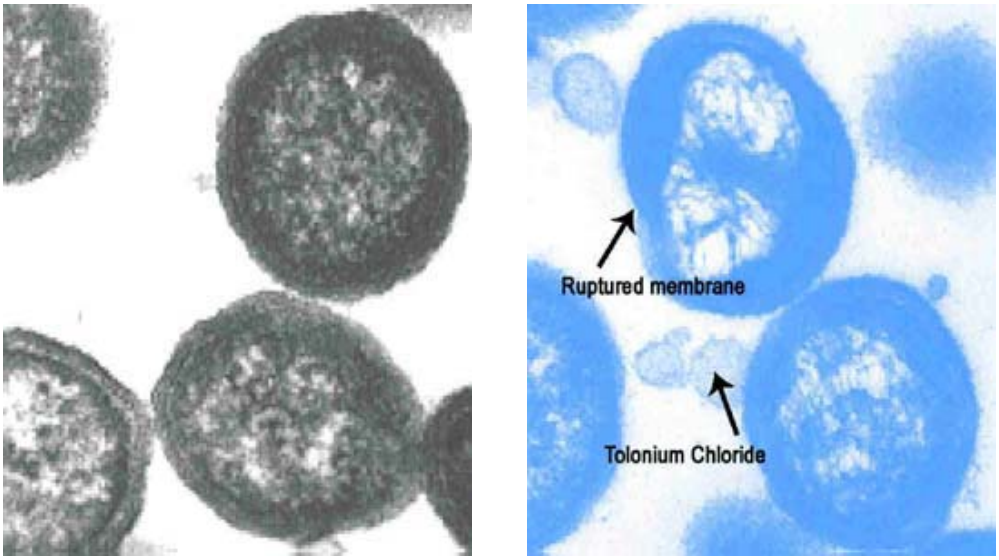


รูปที่ 3 หลักการของ Photodynamic therapy โดย ^{1}PS คือ สารไวแสงในภาวะปกติ +hν คือ พลังงานแสง $^{1}PS^{*}$ คือ สารไวแสงในสภาวะ excited single state $^{3}PS^{*}$คือ สารไวแสงในสภาวะ triple state และ$^{1}O_{2}$ คือ excited-state single oxygen ที่มา : Triesscheijn[56]

สารไวแสงในภาวะปกติ (^{1}PS) เมื่อถูกกระตุ้นจะเข้าสู่สภาวะ excited single state ($^{1}PS^{*}$) หากพลังงานที่ให้ไปไม่มากพอ ทำให้สารไวแสงกลับมาสู่สภาวะเดิม (^{1}PS) โดยคายพลังงานแสงออกมาทำให้เกิดการเรืองแสง (Fluorescence) ซึ่งคุณสมบัตินี้ในทางคลินิกใช้เป็น Photodetection Photosensitizer แต่หากมีพลังงานมากพอสารไวแสงที่อยู่ในสภาวะ excited single state ($^{1}PS^{*}$) จะเกิด electron spin เข้าสู่สถานะที่สาม (triple state ($^{3}PS^{*}$)) เป็นสภาวะที่ถูกกระตุ้น ในสภาวะนี้จะเกิดปฏิกิริยา เป็น 2 ลักษณะ คือ ปฏิกิริยาชนิดที่ 1 (Type I reaction) เกิดจากสถานะที่สาม (triple state ($^{3}PS^{*}$)) ที่ร่วมกับซับสเตรต (substrate) ในที่นี้ คือ โมเลกุลชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ออกซิเจน เกิดปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (electron-transfer reaction) ทำให้มีการสูญเสียอิเล็กตรอน ผลจากปฏิกิริยาได้สารอนุมูล (radical ions) ซึ่งสารอนุมูลเหล่านั้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและได้ผลปฏิกิริยา (product) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) เช่น ซูปเปอร์อ็อกไซด์ (Superoxide) ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และ lipid-derived radical เช่น หากเกิดปฏิกิริยาชนิดที่ 1 กับน้ำที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมของจุลินทรีย์ (microbial milieu) นั้น จะได้เป็นอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ส่งผลให้เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ได้ เป็นต้น

ส่วนในปฏิกิริยาชนิดที่ 2 (Type II reaction) เกิดจากเมื่อได้รับพลังงานทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสถานะที่สาม triple state ($^{3}PS^{*}$) ของสารไวแสงและมีการถ่ายโอนพลังงานกับ Ground state molecular oxygen ได้ excited-state single oxygen ($^{1}O_{2}$) ซึ่ง excited-state single oxygen ($^{1}O_{2}$)

เหล่านี้ สามารถทำปฏิกิริยาอ็อกซิไดซ์ (oxidize) กับโมเลกุลชีวสาร (biological molecule) เช่น โปรตีน (protein) กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ลิพิด (lipid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้เช่นกัน[67] ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาทั้งสองนี้มีระยะเวลาไม่นาน เมื่อสารไวแสงสัมผัสกับแบคทีเรียจะเกิดกลไกทั้ง 2 ชนิดที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าไม่ว่าจะปฏิกิริยาชนิดที่ 1 และปฏิกิริยาชนิดที่ 2 จะมีผลต่อผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่งผลทำให้เกิดการรั่วของผนังของแบคทีเรียซึ่งจะส่งผลทำให้แบคทีเรียตายได้ ดังรูปที่ 4

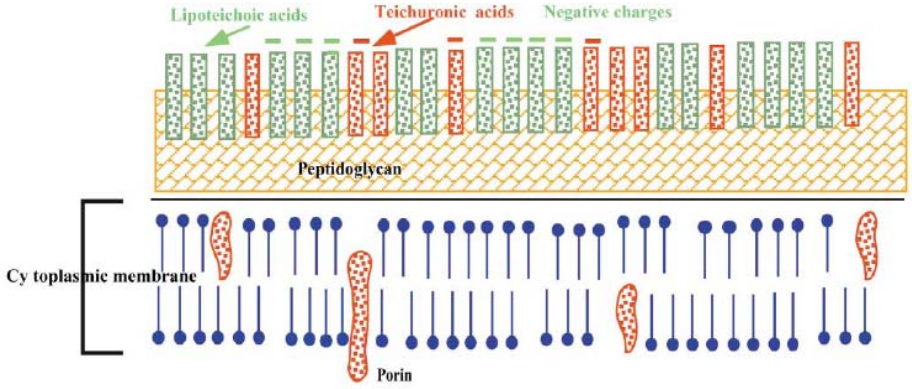


a.) b.)

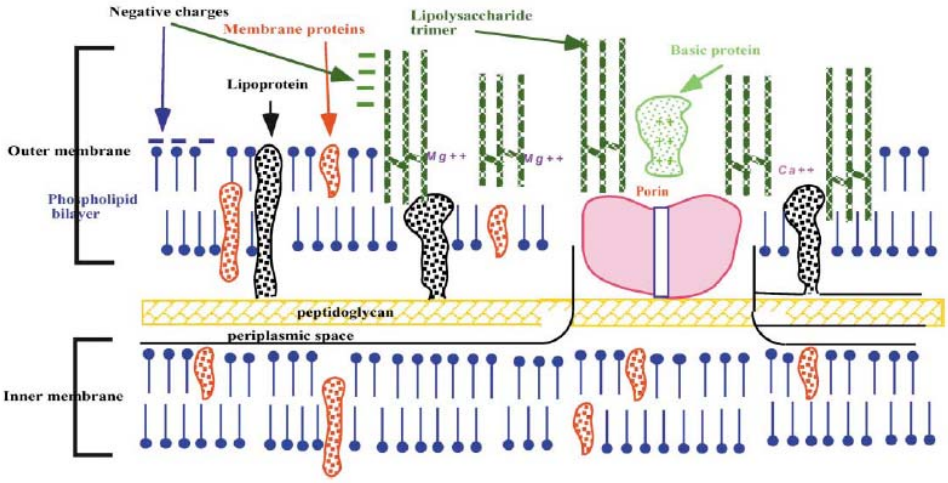
รูปที่ 4 การเปรียบเทียบผล a.) ก่อนใช้ PAD b.) หลังใช้ PAD แสดงถึงการแตกตัวของแบคทีเรีย
ที่มา : http://www.denfotex.com

โครงสร้างของผนังเซลล์ของแบคทีเรียต่อสารไวแสง

แบคทีเรียแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมบวก และแบคทีเรียกรัมลบมีความแตกต่างกันได้แสดงไว้ดังรูปที่ 5 จากความแตกต่างนี้ทำให้สามารถจำแนกแบคทีเรียแต่ละชนิดได้ ดังนี้



a.) *โครงสร้างลักษณะผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมบวก*



b.) *โครงสร้างลักษณะผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมลบ*

รูปที่ 5 โครงสร้างของผนังเซลล์ a.) แบคทีเรียกรัมบวก b.) แบคทีเรียกรัมลบ ที่มา : Hamblin [67]

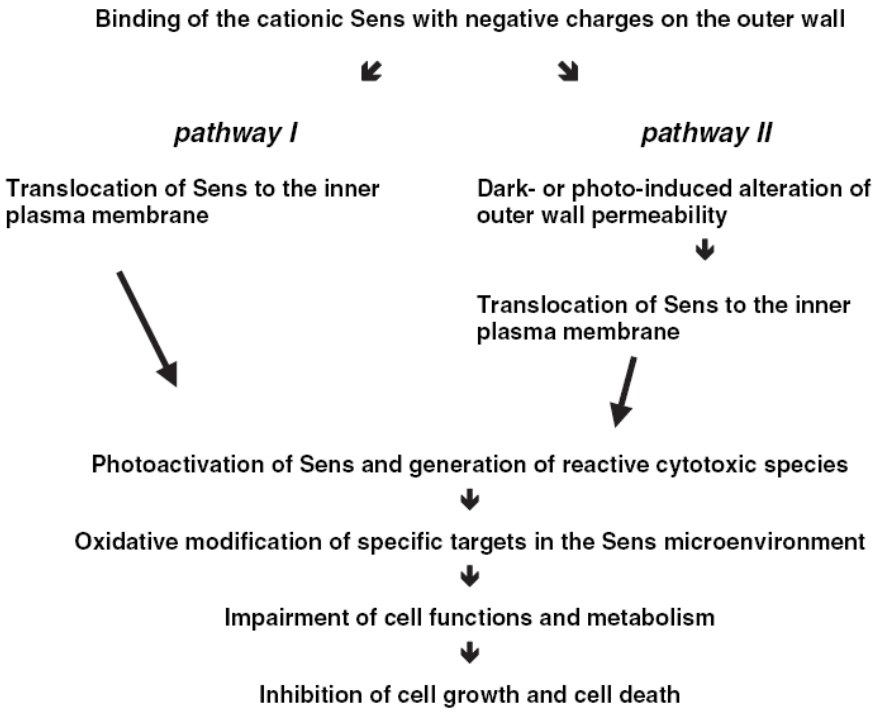
ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมบวกจะประกอบไปด้วยผนังหุ้มไซโทพลาซึมชั้นใน (inner cytoplasmic membrane) ซึ่งมีลักษณะเดียวกันกับแบคทีเรียกรัมลบ แต่ในส่วนของผนังส่วนนอก (outer cell wall) ของแบคทีเรียจะมีความหนามากกว่าแบคทีเรียกรัมลบ คือ หนาประมาณ 15-80 นาโนเมตร โดยผนังส่วนนอกประกอบไปด้วยเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ที่ถูกหุ้มด้วยแคปซูล (capsule) ลักษณะการเรียงตัวของโมเลกุลของผนังส่วนนอกจะมีรูพรุน พบว่าสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น ไกลโคเปปไทด์ (glycopeptides) และโพลีเซคคาไรด์ (polysaccharides) โดยมีน้ำหนักโลเลกุล 30,000 ถึง 60,000 ดัลตัน สามารถซึมผ่านได้[68]

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมลบผนังส่วนนอกมีความหนา 10 ถึง 15 นาโนเมตร องค์ประกอบหลักที่แตกต่างจากแบคทีเรียกรัมบวก คือ การมีเยื่อหุ้มส่วนนอก (outer membrane)

ซึ่งสามารถช่วยในการซึมผ่านของสาร โดยสารที่จะผ่านชั้นนี้จะผ่านทางช่องพอริน (porin chanal) ของเยื่อหุ้มเซลล์โมเลกุลต่ำกว่า 600 ถึง 700 ดัลตัน[69]

จากลักษณะของผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด เมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารไวแสง โดยทั่วไปแล้วจะไม่เกิน 1,500 ถึง1,800 ดัลตัน[55] จะส่งผลให้สารไวแสงสามารถซึมผ่านเข้าไปออกฤทธิ์ในแบคทีเรียกรัมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียกรัมลบ ซึ่งเป็นเหตุผลให้มีความพยายามที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของสารไวแสง โดยทำให้สารไวแสงอยู่กับผนังเซลล์ได้ดีขึ้นจึงปรับปรุงให้สารไวแสงมีประจุบวกสามารถออกฤทธิ์ได้ดีกับแบคทีเรียเพราะผนังหุ้มส่วนนอกของแบคทีเรียมีประจุเป็นลบ ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อทั้งแบคทีเรียกรัมบวกและแบคทีเรียกรัมลบ[70, 71] ต่อมามีความพยายามให้สารไวแสงมีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้นโดยใช้ส่วนประกอบของแอนติบอดี้ร่วมกับสารไวแสง[72] ปัจจุบันมีความพยายามหาวิธีและสารที่จะเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของสารไวแสงมากยิ่งขึ้น

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต Jori และคณะ[55] ได้อธิบายถึงกลไกของสารไวแสงที่จับกับเซลล์ จะมีกลไกการทำงานอยู่ 2 วิถี โดย Pathway I กลไกของ สารไวแสงจะเกิดกับแบคทีเรียกรัมบวก และโพรโตซัว (protozoa) ในระยะ trophozoitic stage ส่วนใน Pathway II ก็จะเกิดต่อแบคทีเรียกรัมลบ ยีตส์ (yeasts) และโพรโตซัวในระยะ cystic stage ดังรูปที่ 6 โดยที่ใน Pathway II แตกต่างจาก Pathway I คือ Pathway II มีกระบวนการเพิ่มสภาพให้ซึมได้ (permeability) ในผนังชั้นนอก (outer wall) ก่อนที่สารไวแสงจะเข้าไปออกฤทธิ์ภายในเซลล์



รูปที่ 6 กลไกการทำงานของสารไวแสงเมื่อจับกับ microbial cell ที่มา : Jori[55]

การประยุกต์ใช้ Photo-Activated Disinfection ทางคลินิก

ทางการแพทย์พบว่า Photodynamic therapy สามารถนำมาใช้ในการรักษามะเร็งและ nonmalignant disease ได้[73] และยังสามารถนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อ เช่น การฆ่าแบคทีเรียที่อยู่ในกระเพาะเช่น แฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร (Helicobacter pylori)[74] ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้มีส่วนทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร เป็นต้น

ในทางทันตกรรม PAD ได้ถูกนำมาใช้หลายด้าน เช่น ด้านปริทันตวิทยา Matevski และคณะ[75] ทำการศึกษาโดยใช้หลักการของ PAD ในการฆ่าแบคทีเรียที่พบบ่อยในทางปริทันต์ เช่น *Porphyromonas gingivalis Prevotella intermedius Actinobacilus actinomycetemcomitan Fusobacterium nucleatum* และ *Bacteroides forsythus* พบว่า Photodynamic therapy สามารถลดจำนวนเชื้อเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่สนับสนุนผลในด้านการกำจัดจุลชีพที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์ (periodontal pathogen) คือ *Actinobacilus actinomycetemcomitan Fusobacterium nucleatum Porphyromonas gingivalis Prevotella intermedius* และ *Streptococcus sanguis* ให้ผลในลักษณะเดียวกัน[58] ส่วนด้านศัลยกรรมรากเทียม Dortbudakc และคณะ[76] ทำการศึกษาในมนุษย์ถึงประสิทธิภาพของ PAD ในการฆ่าแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบ

(peri-implantitis) ซึ่งพบว่าสามารถฆ่าแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ และยังมีการศึกษาที่พยายามนำมาใช้ในการรักษาการติดเชื้อในช่องปาก (oral infection) ต่างๆ[77] ส่วนในงานทันตกรรมหัตถการ มีการศึกษาโดยนำประโยชน์ที่ได้จาก PAD มาใช้ในการกำจัดเชื้อที่อยู่ในเนื้อฟันที่ผุ (carious dentine) โดยพยายามกำจัดเนื้อฟันที่ติดเชื้อ (infected dentine)[78] และยังมีการศึกษาในการใช้ PAD เพื่อนำมาใช้ในการกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ในลักษณะแผ่นชีวภาพ (biofilm)[79]

ในงานรักษาคลองรากฟัน (endodontic treatment) เริ่มมีการศึกษาถึงการที่จะนำหลักการ Photodynamic therapy หรือ Photo-Activated Disinfection มาใช้ประโยชน์ โดยใช้ในการกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ในคลองรากฟัน Silva Garcez และคณะ[80] ได้ทำการศึกษานอกกาย (In vitro) โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ระหว่าง PAD กับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 พบว่า PAD มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อที่ดีกว่า โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยจะให้ผลในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ถึงร้อยละ 99.2 และส่วนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะอยู่ที่ร้อยละ 93.2 นอกจากนี้การศึกษาของ Soukos และคณะ[81] พบว่า PAD สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันได้ถึงร้อยละ 97 ส่วนในการศึกษาอื่นนอกจากทำการทดสอบโดยใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* แล้วยังมีการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ โดย Williams และคณะ[82] ทำการศึกษาโดยใช้เชื้อ *Streptococcus intermedius Preptostreptococcus micros Fusobacterium nucleatum* และ *Prevotella intermedius* เป็นเชื้อทดสอบ พบว่าการใช้ PAD ทำให้ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (control group) ในที่นี้ คือ น้ำเกลือ ส่วนการศึกษาในกาย (In Vivo) พบว่า PAD มีประสิทธิภาพต่อการกำจัดแบคทีเรีย โดยการศึกษาของ Bonsor และคณะ[78] พบว่าการใช้ PAD ร่วมกับกรดซิตริก (citric acid) ในการรักษาคลองรากฟันเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจให้ผลที่ใกล้เคียงกับการใช้กรดซิตริก กับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ นอกจากนี้มีการศึกษาที่สนับสนุนการใช้ PAD ร่วมกับการรักษาคลองรากฟันทั่วไป (conventional endodontic treatment) โดย Garcez และคณะ[83] ได้ทำการศึกษานอกกายพบว่าการใช้ PAD ร่วมกับการรักษาคลองรากฟันปกติจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อและยับยั้งการเจริญเติบโตกลับคืน (regrowth) ของแบคทีเรียได้ดีกว่าการเลือกใช้ PAD หรือการรักษาคลองรากฟันปกติเพียงอย่างเดียว แต่มีการศึกษาที่ให้ผลขัดแย้งกันในส่วนของประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ โดยในการศึกษาของ Seal และคณะ[84] พบว่า PAD มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Streptococcus intermedius* ในคลองรากฟันด้อยกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยที่ PAD สามารถลดเชื้อได้ 5 $\log_{10}$ reduction ส่วนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 3 สามารถฆ่าเชื้อ *Streptococcus intermedius* ในคลองรากฟันได้หมด

จากที่กล่าวมาเป็นที่น่าสนใจว่า ไม่มีการศึกษาใดที่มีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในการใช้ PAD กับน้ำยาล้างคลองรากฟันตัวอื่นๆ ที่นิยมใช้จริง

ทางคลินิก ในการศึกษานี้จะเลือกใช้ ระบบ PAD ของ Denfotex ® ซึ่งเป็นไดโอดเลเซอร์ที่ความยาวคลื่น 633±2 นาโนเมตร พลังงาน 100 มิลลิวัตต์ และสารไวแสง คือ โทโลเนียมคลอไรด์ โดยมีการศึกษาพบว่าระบบ PAD ของ Denfotex® มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในช่องปากได้[85] ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาส่วนประกอบของ PAD เช่น สารไวแสง ความยาวคลื่น และพลังงานแสงที่เหมาะสมส่งผลให้เกิดประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียสูงสุดนั้นแต่ละการศึกษายังมีความหลากหลายและยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันของ Photo-Activated Disinfection (PAD) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 คลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2

2) เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติการฆ่าเชื้อ ในคลองรากฟันเมื่อใช้ Photo-Activated Disinfection (PAD) ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2

สมมุติฐานการวิจัย

ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* และส่งเสริมประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่หลงเหลือในคลองรากฟันเมื่อใช้ร่วมกับน้ำยาล้างคลองรากฟันตัวอื่นๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำข้อมูลต่างๆที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ในแง่การคิดหาวิธีการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อทำให้เกิดผลสำเร็จในการรักษาคลองรากฟันที่สูงขึ้น

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ภายในคลองรากฟันระหว่างระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ในครั้งนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมฟัน
2. การเตรียมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis*
3. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟัน
4. การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิด
5. การเก็บตัวอย่างและการวัดปริมาณเชื้อ
6. การเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope : SEM)
7. การวิเคราะห์ข้อมูล

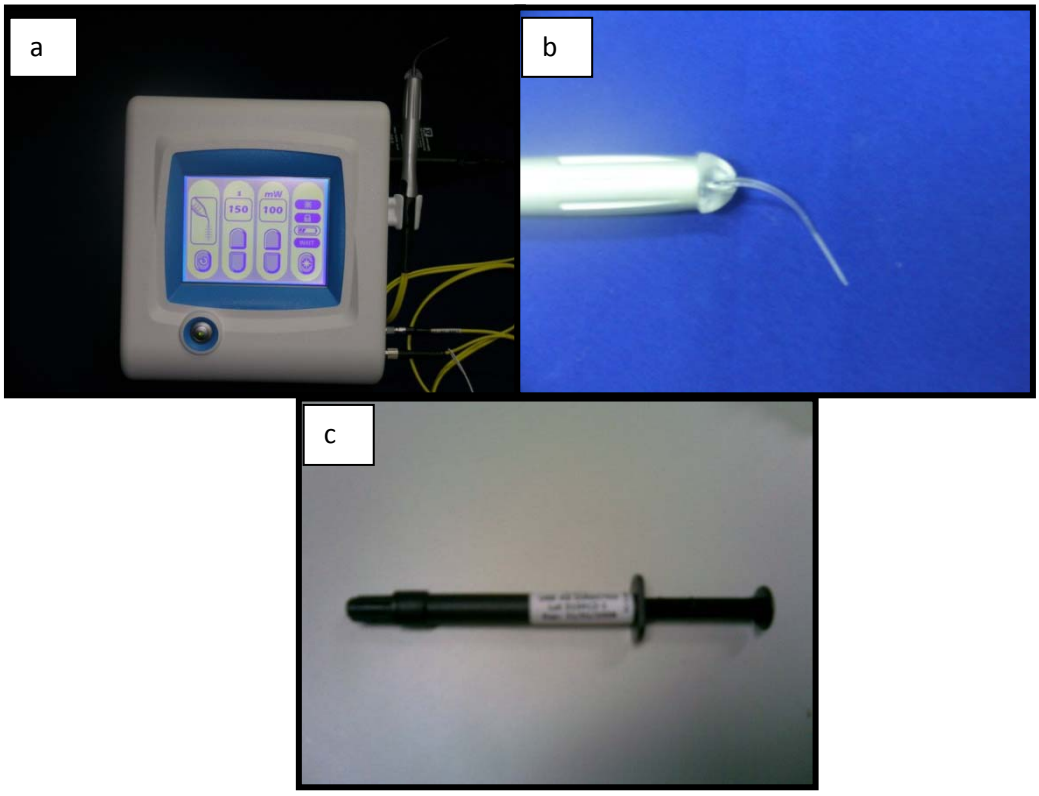
วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

1. ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection : PAD) (Safedent, Denfotex light Systems Ltd, Scotland, UK) (รูปที่ 7) ประกอบด้วย

1.1 ไดโอดเลเซอร์ (diode laser) ความยาวคลื่นประมาณ 633±2 นาโนเมตร พลังงาน 100 มิลลิวัตต์

1.2 Laser tip

1.3 สารละลายโทโลเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 13-15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 7 ระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection : PAD) ประกอบด้วย (a) แหล่งกำเนิดแสง (b) laser tip สำหรับงานวิทยาเอ็นโดดอนต์ และ (c) สารละลายโทโลเนียมคลอไรด์

2. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- เอ็ททิลีนไดเอมีนเททราอะซิติกแอซิด (Ethylenediaminetetraacetic acid : EDTA) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 17
- โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5
- คลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2
- Brain heart infusion (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD) 37 กรัม ต่อ 1 ลิตร ประกอบด้วย Calf brains Infusion 7.7 กรัม beef heart infusion 9.8 กรัม Proteose peptone 10 กรัม dextrose 2 กรัม Sodium chloride 5 กรัม Disodium phosphate 2.5 กรัม (ความเป็นกรด-ด่างที่ 7.4±0.2)
- หลอดทดลอง
- สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate-buffer saline : PBS) ประกอบด้วย

Sodium chloride 8 กรัม Potassium chloride (KCl) 0.2 กรัม Na_2HPO_4 1.44 กรัม KH_2PO_4 0.24 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร (ความเป็นกรด-ด่าง 7.4)

- น้ำเกลือปราศจากเชื้อ (Sterile saline solution)
- น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Sterile distilled water)
- สารละลายไทมอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

3. ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

- เชื้อ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (American Type Culture Collection 29212)

4. ชุดขยายคลองรากฟัน

- เครื่องกรอช้าควบคุมทอร์ค (X-smart™, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)
- ไฟล์ขยายคลองรากฟันแบบใช้มือ ชนิดเคไฟล์ (Hand file instrument) (K-file, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)
- ไฟล์ขยายคลองรากฟันแบบใช้เครื่องกรอช้า (Rotary file instrument) (ProFile®, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)
- กระดาษซับคลองรากฟัน ขนาด F3 (Protaper®, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)
- Barbed broaches (Endo Easy Efficient, Munich, Germany)

5. ชุดเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 และ 1000 มิลลิลิตร
- ปิเปต (Pipette) ขนาด 5 และ10 มิลลิลิตร
- ลูปแพลทินัม (Platinum loop)
- แท่งแก้ว L-loop
- จานเลี้ยงเชื้อ
- ดรอปเปอร์ (Dropper)

6. อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM-5800LV model, JEOL, Tokyo

Japan)

- หม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave) (Tomy, Tokyo, Japan)
- เครื่องวัดดัชนีการหักเหแสง (Spectrophotometer) (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- พี-เอชมิเตอร์ (pH-Meter) (Orion, Waltham, USA)
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex) (Vortex-Genie 2, New York, USA)
- ตู้อบเลี้ยงเชื้อ (Incubator) (Memmert, Schwabach, Germany)
- ตู้กรองอากาศปราศจากเชื้อ (Laminar air flow hood) (Microflow, Bioquell, Andover, UK)

วิธีการ

1. การเตรียมฟัน

การศึกษานี้ใช้ฟันแท้ของมนุษย์ที่มีรากเดียว เช่น ฟันหน้า ฟันกรามน้อยบนและล่าง จำนวน 62 ซี่ ซึ่งตรงตามเกณฑ์ดังนี้

- มี 1 คลองราก และรูเปิดปลายรากเพียงรูเดียว
- มีการสร้างรากสมบูรณ์แล้ว (ปลายรากปิด)
- ไม่มีรอยผุ
- ไม่มีรอยร้าว
- ไม่มีการละลายของรากฟัน

ทำความสะอาดฟันโดยขูดกำจัดเศษเนื้อเยื่อและหินน้ำลายที่ติดกับรากฟันออก เก็บฟันโดยแช่ในสารละลายไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จนกว่าจะเริ่มทำการทดลอง

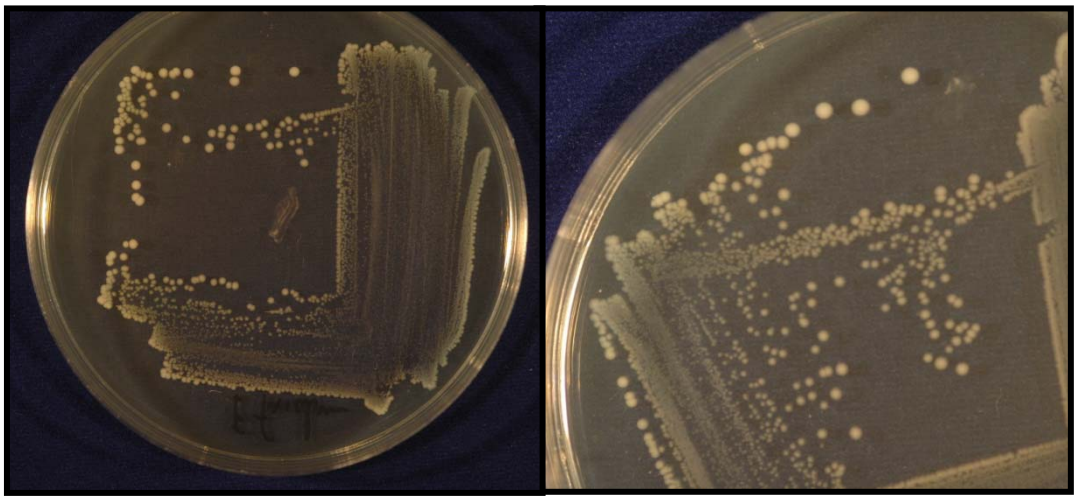
การเตรียมคลองรากฟัน

ตัดตัวฟันออกให้เหลือส่วนของรากฟันยาว 13 มิลลิเมตร จากปลายรากด้วย diamond disc ความเร็ว 20,000 รอบต่อนาที ภายใต้การระบายความร้อนด้วยน้ำและกำจัดเนื้อเยื่อในโพรงฟันด้วย barbed broaches จากนั้นขยายคลองรากฟันด้วยโปรไฟล์ (ProFile® system) จนถึงขนาด 40 /0.06 ตลอดความยาวรากฟัน (12 มิลลิเมตร) ในระหว่างการเตรียมคลองรากฟันใช้ K-file ขนาด 15 สอดผ่านรูเปิดปลายรากฟัน (apical foramen) ประมาณ 1 มิลลิเมตร แล้วล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาณ 5 มิลลิลิตรโดยใช้เข็มขนาด 27 ทุกครั้งที่เปลี่ยนขนาดไฟล์ ในขั้นตอนสุดท้ายล้างด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 2 มิลลิเมตร และแช่ทิ้งไว้ 3 นาทีตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาณ 5 มิลลิลิตรเพื่อ

กำจัดชั้นสเมียร์ ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร แล้วทำการปิดปลายรากฟันด้วยเรซิน คอมโพสิต (resin composite) บริเวณ 3 มิลลิเมตรจากปลายราก แล้วเคลือบผิวรากฟันด้วยน้ำยาทาเล็บ 3 ชั้น เพื่อป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรีย และน้ำยาล้างคลองรากฟัน นำฟันที่ได้แช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ นำเข้าหม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2. การเตรียมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis*

ในการศึกษานี้ใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ปริมาณตั้งต้น 10^8 โคโลนี (Colony Forming Units : CFU) ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการเตรียมเชื้อให้ได้ปริมาณดังกล่าวทำโดยใส่ใน Brain heart infusion broth วัดค่าความขุ่น (turbidity) ของสารแขวนลอยเชื้อ *Enterococcus faecalis* ใน Brain heart infusion broth และทำการนับโคโลนีของ *Enterococcus faecalis* โดยวิธีการดังนี้



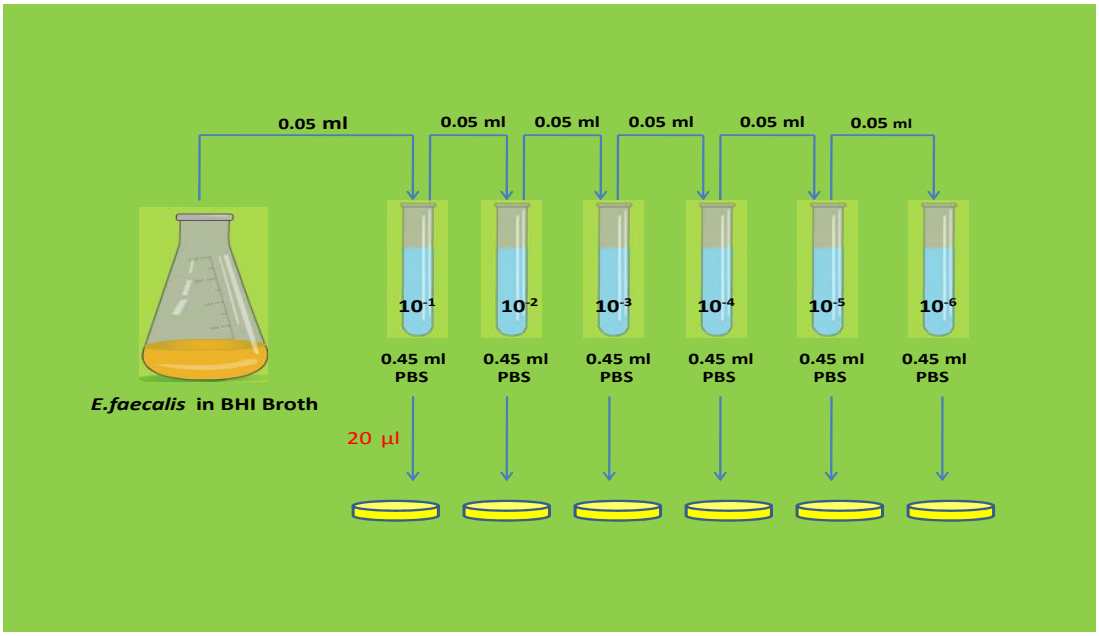
รูปที่ 8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Enterococus faecalis*

2.1 การวัดค่าความขุ่น (turbidity)

วัดค่าความขุ่นของสารแขวนลอยเชื้อ *Enterococcus faecalis* ใน Brain heart infusion broth โดยนำแบคทีเรียที่แขวนลอยใน Brain heart infusion broth ผสมกับ Brain heart infusion broth ปราศจากเชื้อ วัดความขุ่นด้วยเครื่องมือวัดดัชนีการหักเหแสงที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า Optical Density (OD) เท่ากับ 0.40-0.46 ซึ่งจากการทดลองนำร่องพบว่าที่ค่าดังกล่าวจะให้มีปริมาณเชื้อ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2.2 วิธีการนับโคโลนีของเชื้อ

นำสารแขวนลอยเชื้อ *Enterococcus faecalis* ใน Brain heart infusion broth ที่ได้จากการวัดความขุ่น มาทำการเจือจาง $1:10^1$ $1:10^2$ $1:10^3$ $1:10^4$ $1:10^5$ และ $1:10^6$ ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 ขั้นตอนการเตรียมปริมาณเชื้อโดยวิธีการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียโดยการเจือจางเชื้อลงทีละ 10 เท่า

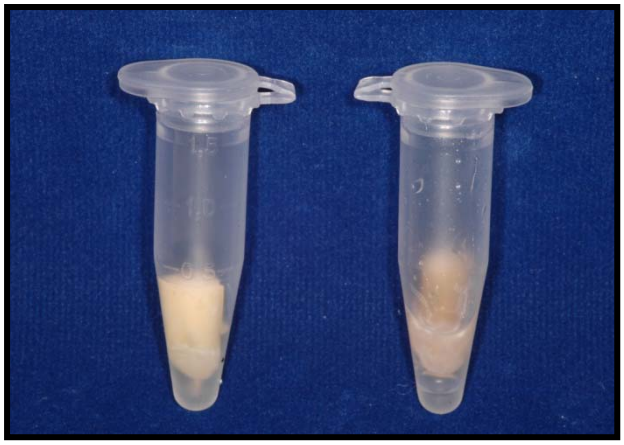
นำสารแขวนลอยแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 20 ไมโครลิตร มาทำการเพาะเชื้อบน Brain heart infusion agar ในตู้อบเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการนับโคโลนีเชื้อ *Enterococcus faecalis* เมื่อได้จำนวนโคโลนีนำมาคำนวณหาปริมาณโคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยใช้สูตร

$$\text{จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ X ส่วนกลับความเจือจางที่ใช้นับ}}{\text{ปริมาณเชื้อที่หยดลงบน Brain heart infusion agar}}$$

การทดลองแต่ละกลุ่มจะทำการวัดค่าความขุ่น และทำการนับปริมาณเชื้อก่อนทุกครั้ง โดยวัดปริมาณให้อยู่ในช่วง 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟัน

ใส่เชื้อ *Enterococcus faecalis* 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในคลองรากฟันที่เตรียมคลองรากและผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว (62 ซี่) โดยใช้ปิเปตต์ทิพ (pipette tip) ขนาดเล็กใส่ลงไปจนถึงบริเวณปลายรากฟัน จากนั้นนำ K file No. 15 ปราศจากเชื้อผ่านลงไปในคลองรากฟันเพื่อให้เชื้อสามารถลงไปถึงบริเวณปลายรากได้ นำฟันที่ทำการใส่เชื้อแบคทีเรียแล้วใส่ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ (microcentrifuge tubes) ซึ่งภายในหลอดมี Brain heart infusion broth ที่ปราศจากเชื้อ 100 ไมโครลิตร และปิดฝา (รูปที่ 10) เพื่อให้ฟันมีความชื้นตลอดเวลาและป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อระเหยออกไป แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 10 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในคลองรากฟัน

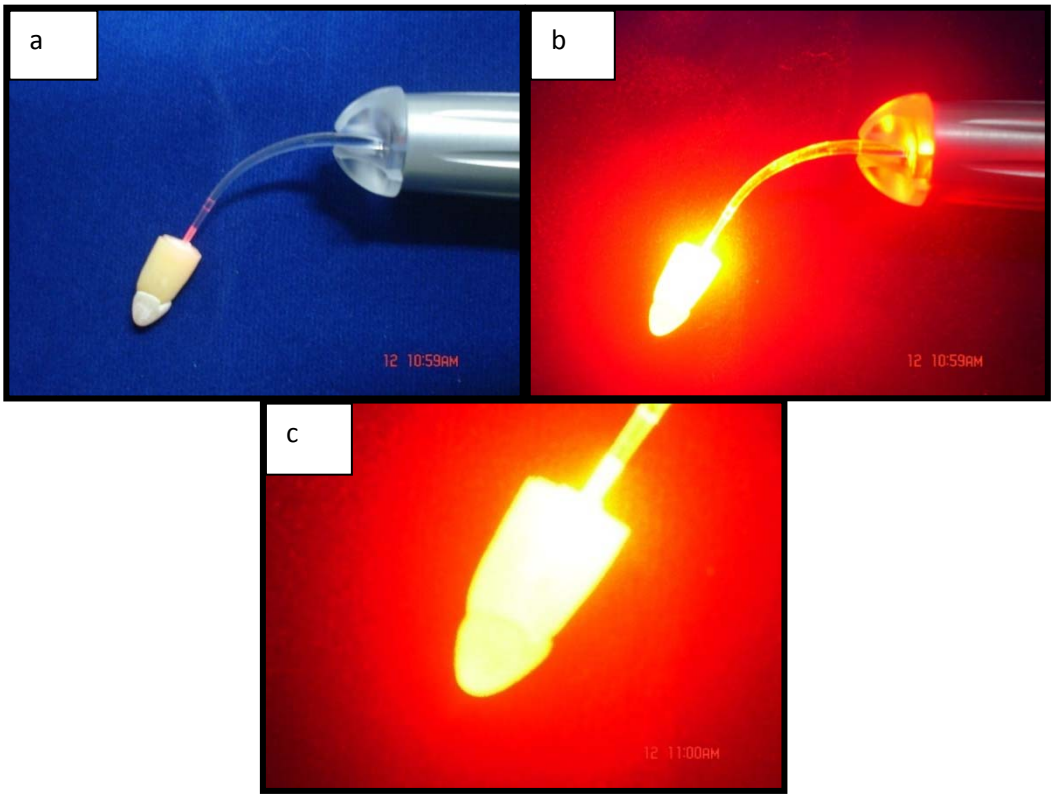
4. การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิด

หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันครบ 1 สัปดาห์ จึงแบ่งฟันออกเป็น 7 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม 2 กลุ่ม และกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม (รูปที่ 14) โดยในกลุ่มควบคุมบวกบวกและกลุ่มทดลองกลุ่มละ 10 ซี่ ส่วนในกลุ่มควบคุมลบใช้เพียง 2 ซี่โดยไม่เพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ลงไป เนื่องจากในการศึกษาจะแทรกกลุ่มควบคุมบวกในกลุ่มทดลองกลุ่มละ 2 ซี่ โดยแบ่งในกลุ่มทดลองดังนี้

- *กลุ่มควบคุมบวก (positive control)* 10 ซี่ หลังจากที่ทำให้ติดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันแล้วก็จะนำมาล้างด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้ 3 นาที

- *กลุ่มควบคุมลบ (negative control)* 2 ซี่ หลังจากที่ทำให้คลองรากฟันปราศจากเชื้อ ทำการล้างคลองรากด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้ 3 นาที โดยไม่มีการใส่เชื้อลงไป
- *กลุ่มที่ 1* : PAD ใส่สารละลายโทโลเนียมคลอไรด์ 10 ไมโครลิตร ในคลองรากฟัน และใช้ K fileขนาด 15 ใส่ลงไปในคลองรากขยับขึ้น-ลง เพื่อนำสารละลายโทโลเนียมคลอไรด์ลงไปให้ถึงปลายรากฟัน เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นใส่ laser tip ให้ปลาย สั้นกว่าจาก working length ประมาณ 3 มิลลิเมตรแล้วฉายแสง (รูปที่ 11) ระหว่างนั้นให้ขยับปลาย laser tip ขึ้น-ลง ทุกๆ 20 วินาทีจนครบ 150 วินาที
- *กลุ่มที่ 2* : ล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที
- *กลุ่มที่ 3* : ล้างคลองรากฟันด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที
- *กลุ่มที่ 4* : ล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใช้ PAD (โดยวิธีเดียวกันกับกลุ่มที่ 1)
- *กลุ่มที่ 5* : ล้างคลองรากฟันด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใช้ PAD (โดยวิธีเดียวกันกับกลุ่มที่ 1)

ในการล้างคลองรากฟันจะทำการควบคุมแรงดันที่ใช้ในการล้างคลองรากฟันให้ใกล้เคียงกัน กำหนดอัตราการไหลของน้ำยาล้างคลองรากฟันประมาณ 5 มิลลิลิตร ในเวลา 32 วินาที ต่อการล้างในแต่ละครั้ง เพื่อป้องกันไม่ให้แรงดันในการฉีดล้างคลองรากฟันมีผลต่อการลดปริมาณเชื้อ (อ้างอิงจาก Boutsioukis และคณะ[86])



รูปที่ 11 การใช้งาน PAD ในคลองรากฟัน โดยใส่ laser tip ในคลองรากฟัน (a) ทำการฉายแสงเลเซอร์ในคลองรากฟัน (b) พลังงานแสงที่ผ่านในคลองรากฟัน (c)

5. การเก็บตัวอย่างและการวัดปริมาณเชื้อ

ในการศึกษานี้จะทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือ ก่อนทำการล้างคลองรากฟัน (S1) และหลังจากล้างคลองรากฟันและทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 24 ชั่วโมง (S2)

1. การเก็บตัวอย่างเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนทำการล้างคลองรากฟัน (S1)

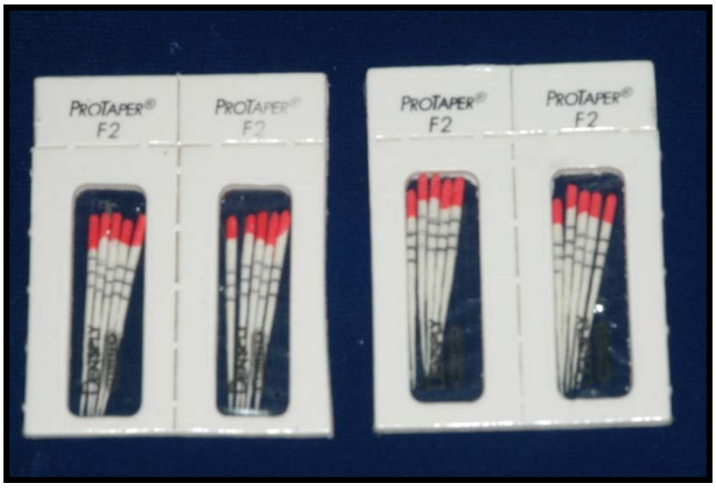
หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการล้างคลองรากฟันด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร เพื่อต้องการให้เชื้อที่อยู่บริเวณต่างๆในคลองรากฟันอยู่ในสภาวะแขวนลอยในคลองรากฟัน แล้วทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้ที่ความเข้มข้นที่ $1{:}10^4$, $1{:}10^5$, $1{:}10^6$

2. การเก็บตัวอย่างเชื้อ *Enterococcus faecalis* หลังจากล้างคลองรากฟันและทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 24 ชั่วโมง (S2)

หลังจากล้างคลองรากฟันด้วยวิธีต่างๆแล้ว ทำการล้างด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร ซับคลองรากฟันให้แห้งแล้วเติม Brain heart infusion broth จำนวน 10 ไมโครลิตร ในคลองรากฟัน นำไปเพาะเลี้ยงเชื้อต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น

ทำการล้างน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร เพื่อต้องการให้เชื้อที่อยู่บริเวณต่างๆในคลองรากฟันอยู่ในสภาวะแขวนลอยในคลองรากฟัน แล้วทำการเก็บตัวอย่างเชื้อเพื่อทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ที่ความเข้มข้นที่ $1:10^0$, $1:10^1$, $1:10^2$

การเก็บตัวอย่างเชื้อ *Enterococcus faecalis* และการวัดปริมาณเชื้อในการศึกษานี้ทำโดยใช้กระดาษซับคลองรากฟันขนาด F2 (รูปที่ 12) ใส่ลงไปในคลองรากที่มีน้ำเกลืออยู่ให้ได้ความยาวเท่ากับ working length ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำกระดาษซับคลองรากฟันใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ประมาณ 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่า 30 วินาทีและนำไปเจือจาง (serial dilution) 10 เท่าในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 7.4 นำสารละลายที่ได้นั้นประมาณ 20 ไมโครลิตร ทำให้กระจายใน Brain heart infusion agar นำไปเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับปริมาณโคโลนีต่อมิลลิลิตรของเชื้อ *Enterococcus faecalis* โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการนับเชื้อของตัวอย่าง (S1) คือ ความเข้มข้นที่ $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$ และสำหรับตัวอย่าง (S2) คือ ความเข้มข้นที่ $1:10^0$, $1:10^1$, $1:10^2$



รูปที่ 12 กระดาษซับคลองรากฟัน ProTaper® ขนาด F2

6. การเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

สุ่มเลือกฟันในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่ผ่านการทดสอบกลุ่มละ 2 ซี่ มาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อดูลักษณะและสภาพพื้นผิวของผนังคลองรากฟันและเชื้อในคลองรากฟันหลังการทดลอง ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร 1 ครั้ง เก็บฟันในสารละลายพาราฟอมอลดิไฮด์ไว้ที่อุณภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำฟันแต่ละกลุ่มมากรอเป็นร่องลึกประมาณ 1 มิลลิเมตร เป็น 2 แนว คือ แนวตัดตามขวาง (cross section) บริเวณ 3 มิลลิเมตรจากปลายรากฟันและส่วนที่เหลือจะตัดตามแนวยาว

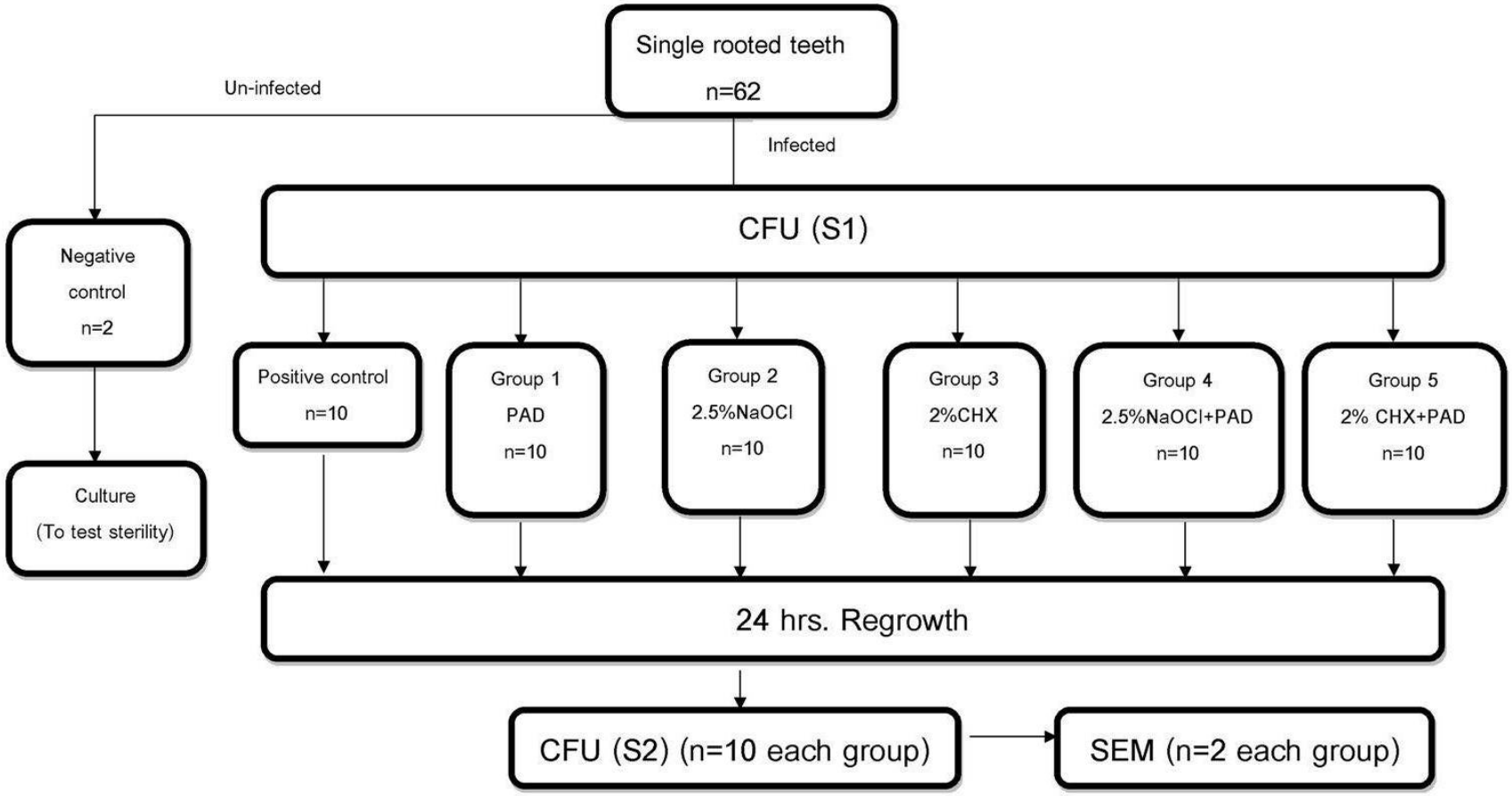
(longitudinal section) จากด้านใกล้กลาง-ไกลกลาง (mesio-distal) ของรากฟันหลังจากนั้นทำการแบ่งด้วยสิ่ว (chisel) (รูปที่13) แล้วทำการขจัดน้ำ (dehydration) ของชิ้นตัวอย่าง โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30, 50, 70, และ 100 ตามลำดับ จากนั้นนำไปเข้าเครื่องเป่าแห้งที่จุดวิกฤติ (critical point dryer) (Polaron, UK) แล้วทำการเคลือบ (coat) ทองด้วยเครื่อง SPI-Module™ Sputter coater (SPI, USA) เพื่อศึกษาลักษณะผนังคลองรากฟันแต่ละกลุ่มทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM-5800LV, JEOL, Tokyo, Japan)

รูปที่ 13 ลักษณะฟันหลังถูกแบ่ง (split) ในแนวตัดตามขวาง (cross section) และแนวยาว (longitudinal section)

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ใช้สถิตินอน-พารามิเตอร์ (Non-Parametric statistics) เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายแบบไม่ปกติ การเปรียบเทียบประสิทธิภาพความแตกต่างภายในกลุ่มใช้วิธี Wilcoxon signed Rank ทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยการใช้ Kruskal-Wallis test และ multiple comparison procedure (Non-Parametric Tukey-Type)[87] ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05

2. ภาพจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดทำการวิเคราะห์ลักษณะของแบคทีเรียและปริมาณที่หลงเหลืออยู่หลังการทดสอบ และเปรียบเทียบลักษณะของพื้นผิวในคลองรากฟันของแต่ละกลุ่มทดลอง



รูปที่ 14 ขั้นตอนการทดลอง

บทที่ 3

ผลการวิจัย

กลุ่มควบคุมลบ

ภายหลังการเตรียมฟัน และคลองรากฟันให้ได้ขนาดที่กำหนด ฟันทุกซี่ถูกทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีอบในหม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของการทำให้ปลอดเชื้อ โดยซับคลองรากฟันด้วยกระดาษซับคลองรากฟัน แล้วนำกระดาษซับคลองรากนั้นมาเพาะเชื้อใน Brain heart infusion broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความขุ่นใน Brain heart infusion broth แสดงให้เห็นว่าการทำให้ปราศจากเชื้อวิธีนี้มีประสิทธิภาพ

การวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันแต่ละกลุ่ม

ผลการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ดังแสดงในตารางที่ 2 เป็นค่าลอกาลิทึม (Logarithm) จากการวิเคราะห์พบว่าปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนการทดสอบ (S1) ในทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

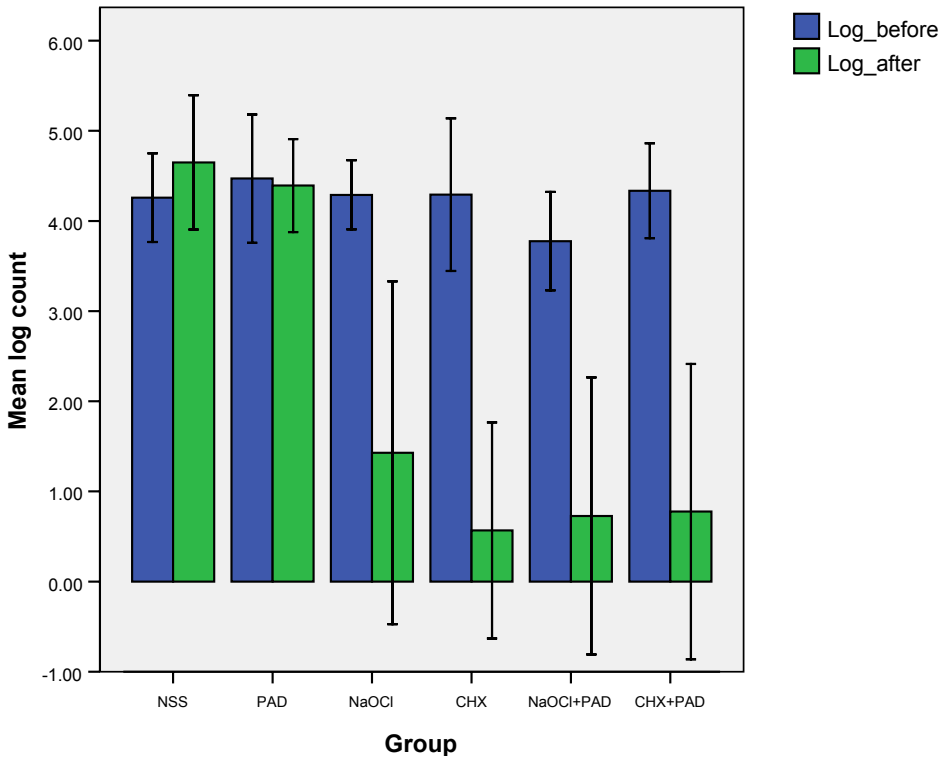
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อก่อนล้างและหลังล้างคลองรากฟันและให้มีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมง (S2) ภายในกลุ่มโดยใช้วิธีทางสถิติพบว่า ในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ล้างน้ำเกลือพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนในกลุ่มอื่น ๆ พบว่ามีปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนและหลังล้างคลองรากฟัน (S2) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10)

จากค่า log reduction ในกลุ่มที่เป็นค่าบวก (ปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการล้างคลองรากฟัน 24 ชั่วโมง (S2) มีปริมาณลดลง) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 2 3 4 และกลุ่มที่ 5 แต่ในกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำเกลือค่า log reduction มีค่าติดลบ (ปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการล้างคลองรากฟัน 24 ชั่วโมง (S2) มีปริมาณเพิ่มขึ้น)

ในการเปรียบเทียบทางสถิติถึงปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการล้างน้ำยาล้างคลองรากฟัน 24 ชั่วโมง (S2) จากตารางที่ 2 ในกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 (PAD) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆที่เหลือ

พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มที่ 2 ล้างด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และกลุ่มที่ 3 ล้างด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มเป็นการล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาล้างคลองรากฟันเพียงชนิดเดียวเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 โดยทั้งสองกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ตามลำดับ ร่วมกับ PAD พบว่าปริมาณเชื้อหลังการล้างและทำการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ในส่วนอัตราการลดลงของเชื้อโดยคิดเป็นร้อยละ น้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีร้อยละการลดลงของเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด รองลงมา คือ การใช้ร่วมกันระหว่างน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 กับ PAD การใช้ร่วมกันระหว่างน้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 กับ PAD น้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ PAD ตามลำดับ



รูปที่ 15 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลอกาลิทึมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ก่อนและหลังล้างคลองรากฟัน

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อในคลองรากฟันในแต่ละกลุ่ม โดยปริมาณเชื้อที่ถูกปรับเปลี่ยนเป็นค่าล็อกฐานสิบ (Log_{10})

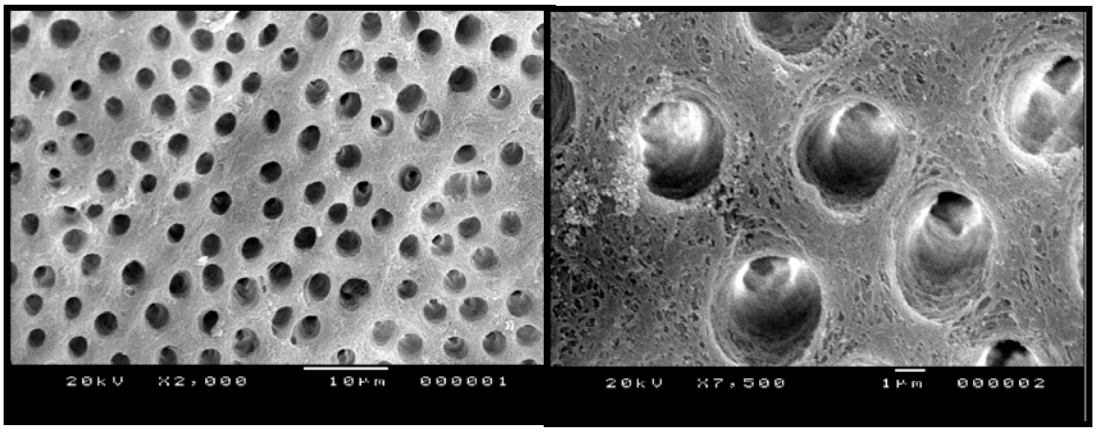
กลุ่ม	สารที่ใช้	ปริมาณเชื้อก่อนการล้าง±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S1)	ปริมาณเชื้อหลังล้างที่ 24 ชั่วโมง±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S2)	Log reduction	เปอร์เซ็นต์การลดลง (% of reduction)
1	PAD	4.470±0.712	4.393±0.517 [a]	0.080±0.752	1.723
2	2.5%NaOCl	4.290±0.384	1.429±1.902 [b]	2.861±1.615	66.690
3	2.0%CHX	4.293±0.848	0.568±1.199 [b]	3.235±1.003	86.769
4	2.5%NaOCl+PAD	3.777±0.546	0.728±1.537 [b]	3.048±1.514	80.725
5	2.0%CHX+PAD	4.336±0.527	1.119±1.807 [b]	3.216±1.813	74.193
Control	Normal saline	4.259±0.491	4.650±0.745 [a]	-0.391±0.822	-9.181

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

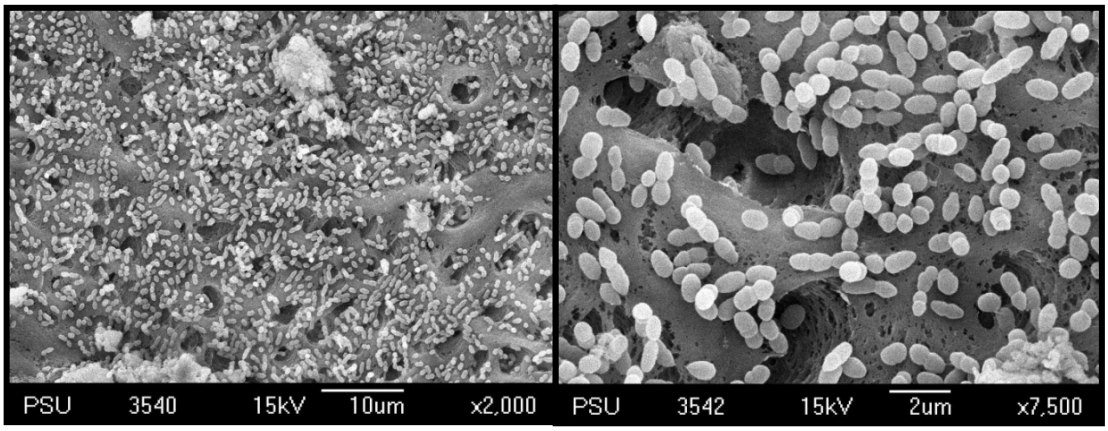
ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลักษณะพื้นผิวของผนังคลองรากฟันภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

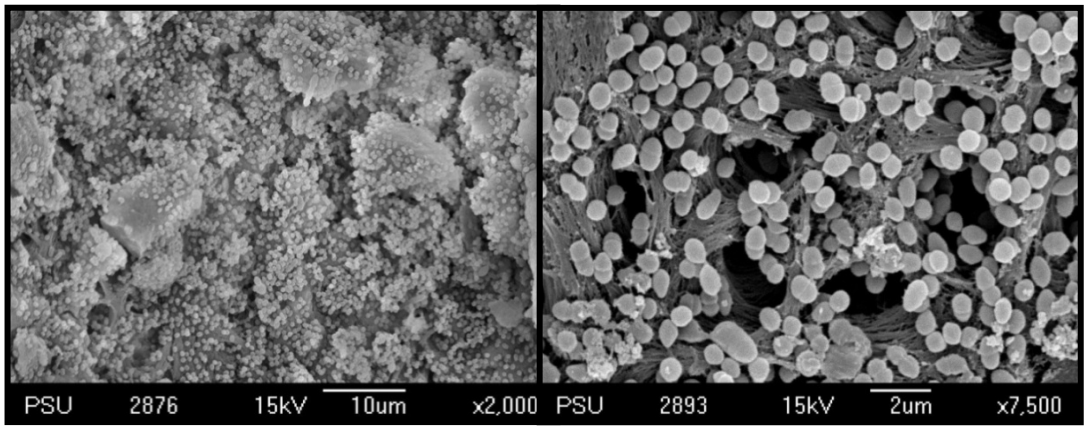
การศึกษานี้ได้สุ่มตัวอย่างในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมหลังให้การเจริญเติบโตกลับที่ 24 ชั่วโมงมากลุ่มละ 2 ซี่ เป็นจำนวน 14 ซี่ เพื่อดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในคลองรากฟันภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



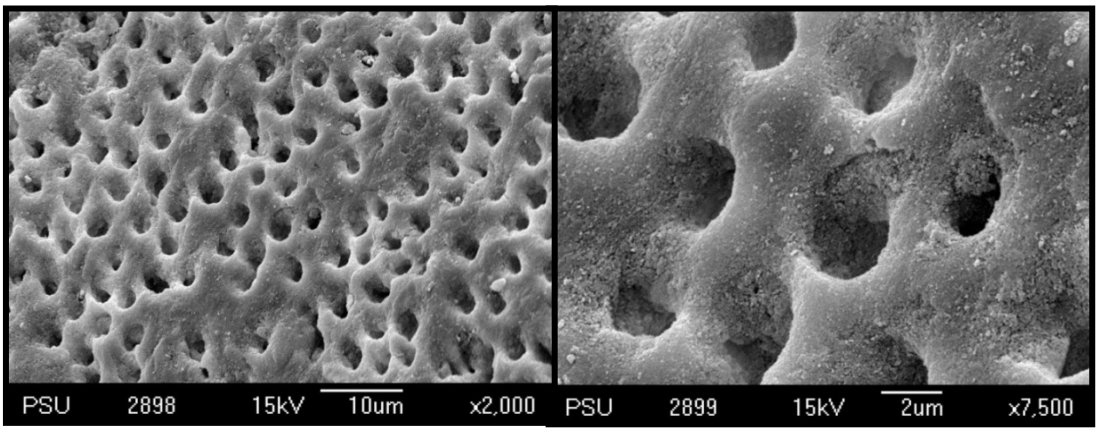
รูปที่ 16 ลักษณะผนังคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมลบ กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และX7,500 (ขวา)



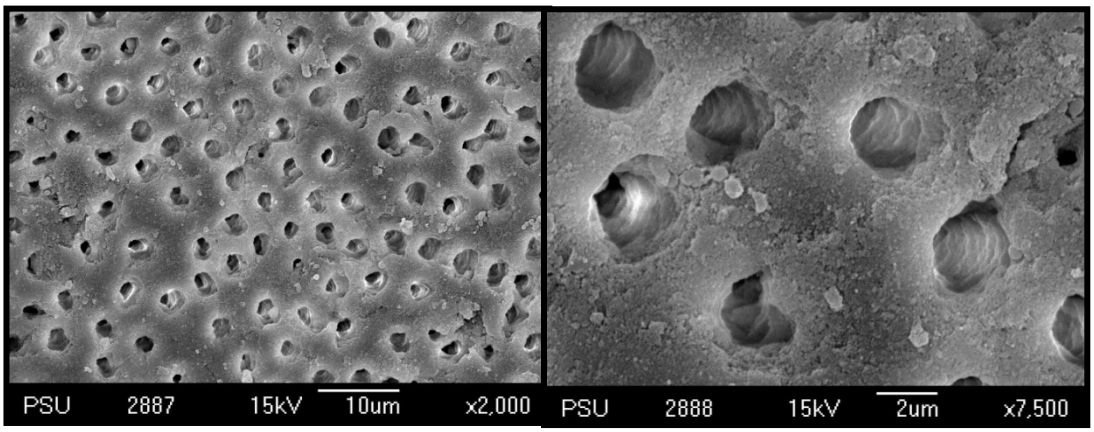
รูปที่ 17 ลักษณะคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมบวก กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)



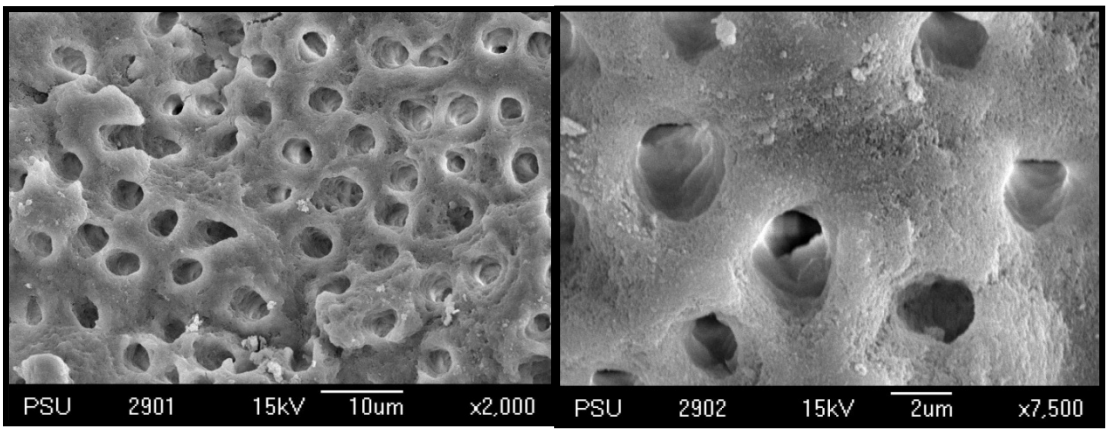
รูปที่ 18 ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 1 PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)



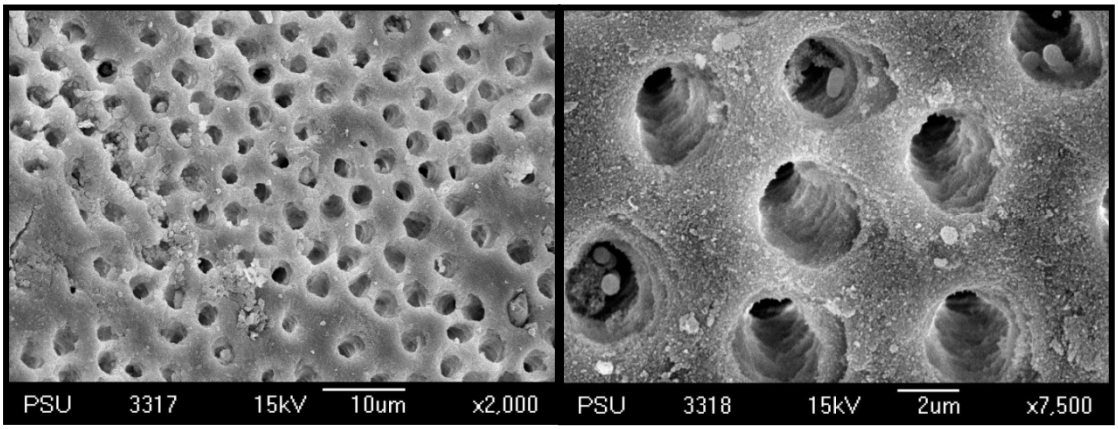
รูปที่ 19 ลักษณะผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 2 2.5%NaOCl กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)



รูปที่ 20 ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 3 2.0%CHX กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)



รูปที่ 21 ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 4 2.5%NaOCl+PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)



รูปที่ 22 ลักษณะของแบคทีเรียที่ผนังคลองรากฟันในกลุ่มที่ 5 2.0%CHX+PAD กำลังขยาย X2,000 (ซ้าย) และ X7,500 (ขวา)

จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าท่อเนื้อฟันในทุกกลุ่มถูกเปิดออก ในกลุ่มควบคุมลบลักษณะพื้นผิวสะอาดเรียบพบเศษ (debris) สิ่งแปลกปลอมน้อยมาก สามารถพบลักษณะ collagen network ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเนื้อฟัน ไม่พบแบคทีเรีย ส่วนในกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำเกลือพบว่ามีเศษสิ่งแปลกปลอมกระจายทั่วไป และสามารถพบลักษณะ collagen network บริเวณผิวคลองรากฟัน จากภาพเห็นว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่พบมีลักษณะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1 ไมโครเมตร แบคทีเรียเกาะกันอย่างหนาแน่นและเกาะติดกับผนังคลองรากฟันโดยกระจายทั่วไป มีบางส่วนมีการเข้าลึก (penetration) ของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน กลุ่มที่ 1 พบว่ามีเศษสิ่งแปลกปลอมกระจายทั่วไป และสามารถพบลักษณะ collagen network บริเวณผิวคลองรากฟัน ในส่วนของแบคทีเรียมีความหนาแน่นและเกาะติดกับผนังคลองรากฟันกระจายทั่วไป บางส่วนมีการเข้าลึก (penetration) ของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำเกลือจากภาพมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน ส่วนในกลุ่มที่ 2 ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และกลุ่มที่ 4 ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับ PAD ลักษณะพื้นผิวพบคราบปกคลุมกระจายทั่วไปบริเวณระหว่างท่อเนื้อฟัน ลักษณะพื้นผิวที่ผนังคลองรากฟันไม่เรียบ ไม่พบลักษณะ collagen network พบแบคทีเรียได้น้อยหรืออาจจะไม่พบแบคทีเรียเลย ส่วนในกลุ่มที่ 3 ล้างด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และกลุ่มที่ 5 ล้างด้วยคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ร่วมกับ PAD พบว่าลักษณะพื้นผิวพบคราบปกคลุมกระจายทั่วไปบริเวณระหว่างท่อเนื้อฟัน ลักษณะพื้นผิวที่ผนังคลองรากฟันไม่เรียบ ไม่พบลักษณะ collagen network พบแบคทีเรียหลงเหลืออยู่บริเวณผนังคลองราก แต่ลักษณะแบคทีเรียมีลักษณะแบบเดี่ยวๆไม่เกาะเป็นกลุ่มกัน และมีบางส่วนมีการเข้าลึกของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

บทที่ 4

บทวิจารณ์

Enterococcus faecalis เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในคลองรากฟันในกรณีเกิดความล้มเหลวภายหลังการรักษาคลองรากฟัน สารเคมีต่างๆที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันเพื่อทำความสะอาดคลองรากฟัน ไม่ว่าจะเป็นโซเดียมไฮโปคลอไรท์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ยังคงไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในสภาวะจริงทางคลินิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นปัจจุบันมีการศึกษามากมายที่พยายามหาวิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุดในกำจัดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ ซึ่งในการศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟัน ซึ่งพบว่า PAD ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันเหมือนกับกลุ่มที่ล้างน้ำเกลือ ส่วนประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 ไม่แตกต่างกัน และ PAD เมื่อใช้ร่วมกับน้ำยาดังกล่าวพบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียนี้ไม่แตกต่างกับการล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เพียงอย่างเดียว

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า PAD ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อและยับยั้งการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันไม่แตกต่างกับการล้างคลองรากฟันด้วยน้ำเหลือ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นในระบบ PAD ที่ต่างกันพบว่า จากการศึกษาของ Silva Garcez และคณะ[80] เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันระหว่างเทคนิค lethal photosensitization หรือ PAD กับการล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 พบว่า PAD มีประสิทธิภาพเหนือกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถลดเชื้อแบคทีเรียได้ร้อยละ 99.2 ส่วนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถลดเชื้อแบคทีเรียได้ร้อยละ 93.25 ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างทันทีหลังใช้ PAD หรือหลังล้างคลองรากฟัน

Soukos และคณะ[81] ทำการศึกษาโดยใช้ Photodynamic therapy ซึ่งเป็นหลักการเดียวกับ PAD เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อต่างๆ ที่อยู่ในคลองราก ในส่วนของเชื้อ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) พบว่า Photodynamic therapy วิธีนี้ให้ผลในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟันเป็นเวลา 3 วัน ได้สูงถึงร้อยละ 97

ซึ่งระบบ PAD แตกต่างจากระบบ PAD ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ สารไวแสงเป็นเมททิลลีน บูล (methyllene blue) และความยาวคลื่นแสงใช้ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร ในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจะทำการเก็บตัวอย่างทันทีเช่นกัน และทำนองเดียวกันในการศึกษาของ Foschi และคณะ[88] ได้ดัดแปลงระบบ PAD ของการศึกษา Soukos และคณะ[81] โดยลดความเข้มข้นสารไวแสงและลดพลังงานแสงเลเซอร์ การศึกษาอธิบายถึงระบบ PAD ต่อประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟัน ทำการเพาะเลี้ยงในฟันเป็นเวลา 3 วัน แล้วเปรียบเทียบถึงผลของแสงเลเซอร์ สารไวแสง และการใช้ร่วมกันของสารไวแสงและเลเซอร์ พบว่าการใช้ร่วมกันของสารไวแสงกับเลเซอร์สามารถลดปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ถึงร้อยละ 77.5 มากกว่ากลุ่มอื่นๆที่ทดสอบ

ส่วนในการศึกษาที่ใช้ PAD ระบบเดียวกันในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* พบว่า Bergmans และคณะ[89] ทำการศึกษาในห้องทดลองโดยทดสอบประสิทธิภาพของ PAD ซึ่งเป็นระบบเดียวกับการศึกษานี้ พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* (LMG 7937) ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงในคลองรากฟันเป็นเวลา 2 วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันร้อยละ 88.4 โดยทำการเก็บตัวอย่างทันที และในการศึกษาของ Meire และคณะ[90] ได้ศึกษาในห้องทดลองโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ระหว่าง เลเซอร์ PAD และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในคลองรากฟัน ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟัน 2 วัน พบว่า PAD สามารถลดปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ 1.42 log reduction โดยทำการเก็บตัวอย่างทันที

เห็นได้ว่าแต่ละการศึกษาที่กล่าวถึงประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟัน พบว่า PAD มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้มากอาจเป็นเพราะว่า ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่แตกต่างกันและการที่เชื้อ *Enterococcus faecalis* มีความสามารถในการสร้างแผ่นชีวภาพได้ หรืออาจเป็นเพราะในการเก็บตัวอย่างในการนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียพบว่าการศึกษาที่กล่าวข้างต้นส่วนใหญ่จะทำการเก็บตัวอย่างทันทีหลังใช้ PAD ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้เพราะทำการเก็บตัวอย่างหลังใช้ PAD และให้มีการเจริญเติบโตใหม่ 24 ชั่วโมง และสังเกตว่าระบบ PAD แต่ละระบบมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* แตกต่างกัน

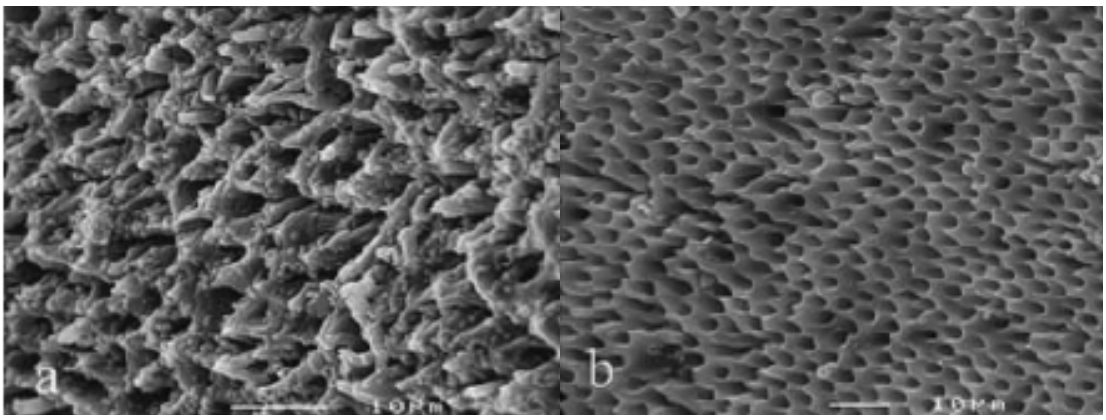
ในกรณีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่าน้ำยาล้างคลองรากฟันทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากหลายการศึกษา[91-93] พบว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการกำจัด

เชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันได้ แต่มีบางการศึกษาเช่นการศึกษาของ Gomes และคณะ[42] และ Vianna และคณะ[94] พบว่าคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* มากกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยใช้ระยะเวลาในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่า หากพิจารณาถึงปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังล้างคลองรากฟันและให้มีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมง ในการศึกษานี้พบว่าประสิทธิในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* น้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มากกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ

การใช้ PAD ร่วมกับน้ำยาล้างคลองรากฟันตัวอื่นนั้น ในการศึกษาของ Garcez และคณะ[83] ทำการศึกษาในห้องทดลองโดยศึกษาถึงผลในการฆ่าเชื้อ *Proteus mirabilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้เป็นกรัมลบพบว่าการใช้ PAD ร่วมกับการรักษาคลองรากฟันแบบปกติ (Conventional endodontic therapy) ในที่นี้ คือ การขยายคลองรากฟันร่วมกับการล้างคลองรากฟัน โดยน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ใช้ คือ ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 ผลที่ได้พบว่าการใช้ PAD ร่วมกับการรักษาคลองรากฟันแบบปกตินั้นอาจมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างกับการศึกษานี้ โดยพบว่าการใช้ร่วมกันระหว่าง PAD กับน้ำยาล้างคลองรากฟัน ไม่มีความแตกต่างกันกับการใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันเพียงอย่างเดียว ส่วนในการใช้ PAD ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 หรือคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 เพียงอย่างเดียวยังไม่พบรายงาน

เมื่อพิจารณาในกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจากลักษณะผนังคลองรากฟันพบว่าในกลุ่มควบคุมลบผนังคลองรากฟันสะอาด ท่อเนื้อฟันถูกเปิด และจะพบ collagen network บริเวณเนื้อฟันด้วย แสดงให้เห็นว่าการล้างด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรแช่ไว้ 3 นาทีแล้วล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 สามารถกำจัดชั้นสเมียร์และเปิดท่อเนื้อฟันได้ ส่วนในกลุ่ม PAD และกลุ่มที่ล้างน้ำเกลือพบเศษสิ่งแปลกปลอมทั่วไป เปิดท่อเนื้อฟันได้ และสามารถพบ collagen network ส่วนในกลุ่มอื่นๆ พบว่ามีเศษสิ่งแปลกปลอมกระจายทั่วไป ท่อเนื้อฟันถูกเปิด แต่ไม่พบ collagen network เนื่องจากถูกปกคลุมด้วยคราบ ซึ่งมีข้อสันนิษฐานว่าคราบที่ปกคลุมน่าจะเป็น Brain heart infusion broth เนื่องจากการศึกษานี้ทำการเก็บตัวอย่างหลังล้างคลองรากฟันและให้มีการเจริญเติบโตใหม่ 24 ชั่วโมง ส่วนในกลุ่มล้างน้ำเกลือและกลุ่ม PAD ไม่พบอาจเนื่องจากสองกลุ่มนี้พบแบคทีเรียจำนวนมากซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้จำเป็นต้องใช้อาหารทำให้ไม่พบคราบมาเกาะบริเวณผนังคลองรากฟัน ในส่วนประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* กลุ่มที่ 1 PAD หลังล้างคลองรากฟัน 24 ชั่วโมงพบแบคทีเรียจำนวนมากที่ผนังคลองรากฟันและมีบางส่วนมีการเข้าลึกในท่อเนื้อฟันเหมือนกับกลุ่มที่ล้าง

น้ำเกลือ แตกต่างจากการศึกษาของ Foschi และคณะ[88] ทำการศึกษาโดยเพาะเลี้ยง *Enterococcus faecalis* เป็นเวลา 3 วัน และดูผล SEM เพื่อดูเชื้อ *Enterococcus faecalis* หลังจากใช้ PAD ทันทีผลที่ได้พบว่า PAD สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* จากผนังคลองรากฟันได้หลังล้างด้วย BHI broth ดังรูปที่ 23 ส่วนในกลุ่มอื่นที่เหลือไม่สามารถพบแบคทีเรียอยู่กันเป็นกลุ่มได้ชัดเจนหรือไม่พบเลย จะเห็นได้ว่าผลที่ได้จาก SEM สอดคล้องกับผลจากการนับปริมาณเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยในกลุ่ม PAD และกลุ่มที่ล้างน้ำเกลือมีปริมาณแบคทีเรียที่อยู่บนผนังคลองรากฟันหนาแน่นกว่ากลุ่มอื่นๆ



รูปที่ 23 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในการศึกษาของ Foschi และคณะ[88] a .) ลักษณะของเชื้อ *Enterococcus faecalis* บนผนังคลองรากฟันหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน b.) ลักษณะผนังคลองรากฟันหลังใช้ PAD และล้างด้วย BHI broth

การที่ PAD ไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพอาจเนื่องจากการเก็บตัวอย่างในการศึกษานี้ต้องการวัดปริมาณเชื้อที่หลบซ่อนอยู่ในคลองรากฟัน เพราะเชื่อว่า เชื้อ *Enterococcus faecalis* เป็นแบคทีเรียที่ดื้อต่อการรักษา มีคุณสมบัติสามารถรุกรานเข้าไปในท่อเนื้อฟันได้ และดำรงชีวิตอยู่ได้นานแม้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้อต่อการดำรงชีวิต แบคทีเรียชนิดนี้สามารถอยู่ในรูปแผ่นชีวภาพแบบเดี่ยวๆได้ จึงอาจรอดพ้นจากการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของน้ำยาชนิดต่างๆได้ จากการศึกษาของ Distel และคณะ[6] ได้อธิบายว่าแบคทีเรียที่อยู่ในรูปแผ่นชีวภาพสามารถทนต่อน้ำยาฆ่าเชื้อกว่าแบคทีเรียที่เป็นจุลชีพอิสระถึง 1,000-1,500 เท่า โดยกลไกมีหลายแบบเช่น การสร้างแมทริกซ์มาห่อหุ้มเพื่อลดการแทรกซึมผ่านของสารต้านจุลชีพต่างๆได้ และจุลชีพในแผ่นชีวภาพมีอัตราการเผาผลาญพลังงานต่ำและมีการเจริญเติบโตช้าทำให้มีความทดทานต่อสารต้านจุลชีพ จากคำอธิบายดังกล่าวอาจเป็นเหตุผลหนึ่งในการอธิบายประสิทธิภาพของ PAD ต่อการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ

Bergmans และคณะ[89] พบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* เมื่ออยู่ในลักษณะแผ่นชีวภาพหลังจากใช้ PAD ซึ่งเป็นระบบเดียวกันกับการศึกษานี้จากภาพ Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM) พบว่า PAD ไม่สามารถกำจัดแผ่นชีวภาพได้หมด ในกรณีเปรียบเทียบ PAD กับน้ำยาล้างคลองรากฟัน มีประเด็นที่น่าสนใจว่าประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ของ PAD แตกต่างจากน้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดอื่นๆมาก อาจเนื่องจากการใช้ PAD มีปริมาณและจำนวนการล้างคลองรากฟันที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ จึงอาจมีผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ลดลงได้เช่นกัน

การรักษาคลองรากฟันทั่วไปในปัจจุบันยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันและยังคุ้มค่าในส่วนค่าใช้จ่ายและเวลาหากเทียบกับ PAD ซึ่งในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันต่อไป

ข้อเสนอแนะต่อการวิจัยในอนาคต

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อของเทคนิค PAD กับน้ำยาล้างคลองรากฟันที่นิยมใช้ในทางคลินิก จึงมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถอ้างอิงในทางคลินิกได้ทั้งหมด จากผลการศึกษาถึงแม้ว่า PAD ในระบบนี้ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่อยู่ในคลองรากฟัน ปัจจุบันไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนถึงระบบ PAD ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในด้านการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมง ในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุงในส่วนของความยาวคลื่นแสงของเลเซอร์กับสารไวแสงให้มีความจำเพาะเจาะจงกับแบคทีเรียชนิดนี้มากยิ่งขึ้นและทำการทดสอบในด้านการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ที่ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทราบถึงการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่ยังหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันได้ หรือทำการออกแบบการศึกษาโดยศึกษาถึงปริมาณการเข้าลึกของเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในท่อเนื้อฟันซึ่งทดสอบได้จากการกรอเนื้อฟันเป็นชั้นๆ แล้วทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis*[95, 96] หรืออาจทำการเตรียมฟันเพื่อดูแบคทีเรียที่เหลืออยู่โดยการย้อมสีแบคทีเรียและดูทางมิญชวิทยาตามวิธีของ Berutti และคณะ[97]

ในการแปลผลความมีชีวิตของแบคทีเรีย การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นวิธีหนึ่งที่นิยม แต่ปัจจุบันจากการศึกษา Lleó และคณะ[98, 99] พบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* จัดเป็นแบคทีเรียที่สามารถอยู่ในสภาวะ Viable But Non-Culturable state (VBNC) คือ แบคทีเรียสามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาวะสิ่งแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวย อาจเป็นผลให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงแบคทีเรียได้จากวิธีการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวเพื่อยืนยันการมีชีวิตไม่อาจสามารถสรุปได้ถูกต้อง

ทั้งหมดอาจต้องมีการยืนยันผลโดยการทดสอบวิธีชีวโมเลกุล (molecular biology) เช่น ตรวจหายีน *pbp5* mRNA ซึ่งยีนนี้เกี่ยวข้องกับ metabolic activity และ resuscitation capability โดยวิธี reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)[99] เป็นต้น

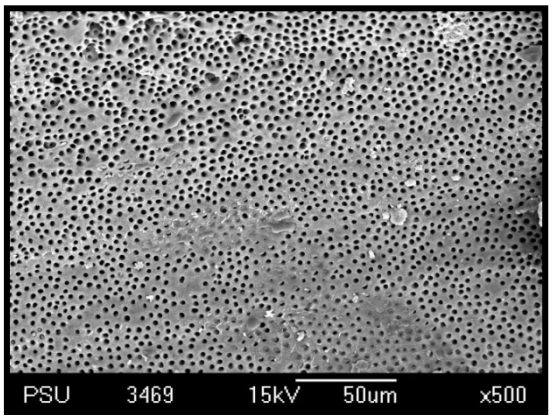
บทวิจารณ์วิธีวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษานอกกาย (In vitro study) โดยทดสอบกับฟันมนุษย์ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ชนิดเดียว (monoculture) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เชื้อ *Enterocuccus faecalis* เป็นแบคทีเรียชนิดกรัมบวกรูปกลมใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต แบคทีเรียชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับฟันที่ล้มเหลวจากการรักษาคลองรากฟันเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่จำกัดได้ ความสามารถอาศัยอยู่ในท่อเนื้อฟันได้ ความสามารถในการสร้างแผ่นชีวภาพด้วยตัวเองได้ ความสามารถทนทานต่อการล้างด้วยน้ำยาล้างคลองรากฟัน และทนต่อการใส่ยาในระหว่างรักษาคลองรากฟันในที่นี คือ แคลเซียมไฮดร็อกไซด์[16] มีหลายการศึกษามักใช้แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียทดสอบเนื่องจากความสามารถที่กล่าวมาแล้วและยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถสัมผัสอากาศได้ทำให้ง่ายต่อการทดสอบจึงตัดสินใจที่จะเลือกใช้แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียทดสอบเพื่อเปรียบเทียบและอ้างอิงกับการศึกษาอื่นได้ เพราะที่ผ่านมายังไม่มีข้อสรุปถึงประสิทธิภาพที่ดีที่สุดของน้ำยาล้างคลองรากฟันต่อแบคทีเรียชนิดนี้ในทางคลินิก

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในคลองรากฟันมนุษย์ มีความหลากหลายที่ระบุระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในคลองรากฟัน เช่น 24 ชั่วโมง[92] 2 วัน[89] 3 วัน[88] 7 วัน[37] เป็นต้น ในการศึกษานี้เลือกที่ใช้ระยะเวลา 7 วัน เพราะจากการศึกษาของ Dametto และคณะ[100] อธิบายว่าระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อในคลองรากฟัน 7 วัน เป็นระยะเวลาที่เพียงพอที่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อที่คงเหลืออยู่ในคลองรากฟันหลังการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของน้ำยาล้างคลองรากฟัน และจากการศึกษาของ Bergmans และคณะ[89] พบว่าจากการสังเกตุจากกล้อง ESEM ซึ่งแตกต่างจากกล้องจุลทรรศ์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดคือ สามารถดูตัวอย่างในสภาวะชื้นหรือของเหลวได้ จากผลการศึกษาพบว่า *Enterocuccus faecalis* มีความสามารถในการเกิดแผ่นชีวภาพได้อย่างรวดเร็วโดยใช้ระยะเวลาเพียง 2-6 วัน ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในฟันมนุษย์ที่ 7 วันจึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมและเพียงพอกับการทดสอบในการศึกษานี้ ในความเป็นจริงแล้วการเกิดรอยโรคปลายรากฟันเกิดจากแบคทีเรียหลายๆชนิดร่วมกันไม่ใช่เกิดจากแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งจึงอาจเป็นข้อจำกัดในการศึกษานี้ที่จะอ้างอิงถึงผลทางคลินิกต่อการป้องกันและรักษารอยโรครอบรากฟันได้ แต่การเลือกเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชนิดเดียวนั้นเพื่อง่ายต่อการทดสอบและอ้างอิงกับการศึกษาอื่นๆที่มีลักษณะเดียวกัน นอกจากนี้เพื่อลดการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นในขณะทำการศึกษาและที่สำคัญการใช้แบคทีเรียหลาย

ชนิดต้องใช้งบประมาณและเวลาในการศึกษามาก

ในการเตรียมฟันเพื่อใช้ในการทดสอบจะจำลองให้มีความใกล้เคียงกับสภาวะความเป็นจริงมากที่สุด โดยใช้ฟันมนุษย์ที่ถูกถอนมาเก็บไว้ในสารละลายไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยเลือกขนาดฟันให้มีลักษณะที่ใกล้เคียงมากที่สุด เลือกฟันที่มีคลองรากเดียว ซึ่งเป็นฟันตัดหน้าและฟันกรามน้อย ฟันที่เลือกทุกซี่นำมาทำความสะอาดและตัดตัวฟันให้เหลือในส่วนของรากฟันเท่ากันโดยเหลือความยาว 13 มิลลิเมตรจากปลายราก เพื่อควบคุมปริมาตรภายในคลองรากฟัน จากนั้นทำการขยายคลองรากฟันด้วยเครื่องมือขยายคลองรากฟัน ProFile® เพื่อให้ได้ขนาดคลองรากฟันที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด โดยขยายจนถึง No 40 ความสอบร้อยละ 6 ในการขยายถึงขนาดนี้เนื่องจากเพื่อให้สอดคล้องกับเครื่องมือที่จะทำการทดสอบเช่น กระดาษซับคลองรากที่มาตรฐาน ขนาดของปลายเข็มที่ใช้ในการล้างคลองรากฟัน และที่สำคัญขนาดของ laser tip ชนิดที่ใช้ในงานรักษาคลองรากฟันร่วมกับระบบ PAD มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 300 ไมโครเมตร[59] ในขั้นตอนสุดท้ายจะทำการกำจัดชั้นสเมียร์โดยการล้างด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 ทิ้งไว้ 3 นาที และล้างออกด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 จากการทำการศึกษาของ Scelza และคณะ[101] พบว่าการใช้ EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 เป็นเวลา 3 นาที เป็นระยะเวลาที่เพียงพอต่อการกำจัดชั้นสเมียร์และจากการศึกษานำร่องโดยนำฟันที่เตรียมนั้นไปดูด้วย SEM พบว่าสามารถกำจัดชั้นสเมียร์ได้ดังรูปที่ 24 ดังนั้นวิธีและเวลาที่ใช้ในการกำจัดชั้นสเมียร์มีความเหมาะสมเพื่อสามารถกำจัดชั้นสเมียร์ที่อยู่ติดกับผนังคลองรากฟันและท่อเนื้อฟันได้ ฟันที่ผ่านการเตรียมคลองรากฟันและกำจัดชั้นสเมียร์ถูกนำมาทาด้วยน้ำยาทาเล็บ 3 ชั้นและปิดปลายรากด้วยวัสดุอุดฟันเรซินคอมโพสิตชนิดบ่มด้วยแสงเพื่อป้องกันไม่ให้แบคทีเรียและน้ำยาล้างคลองรากฟันรั่วขณะทำการทดสอบ จากนั้นฟันจะถูกเก็บไว้ในสารละลายไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จนกว่ามีการทดสอบเพื่อต้องการป้องกันไม่ให้ฟันแห้งซึ่งอาจส่งผลต่อโครงสร้างของเนื้อฟัน ก่อนการทดสอบนำฟันผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ โดยนำฟันที่ผ่านการเตรียมฟันมาแล้วใส่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อยู่ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียมจากนั้นจะนำไปใส่ในตู้อบความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทำการสุ่มฟันและซับคลองรากฟันโดยนำของเหลวที่อยู่ในคลองรากฟันมาเพาะเลี้ยงเชื้อใน Brain heart infusion broth แล้วสังเกตุความขุ่นเพื่อพิสูจน์ประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อ ซึ่งหากพบว่ามีความขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่นำมาใช้ในการทดสอบ จากการทำให้ปราศจากเชื้อนั้นผลที่ได้ไม่พบความขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงพิสูจน์ได้ว่าไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่น



รูปที่ 24 ลักษณะพื้นผิวคลองรากฟันหลังล้างคลองรากฟันด้วย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 17 และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ในการศึกษานำร่อง

ในการเตรียมเชื้อ *Enterococcus faecalis* และการเพาะเลี้ยงเชื้อนั้นการศึกษานี้ สั่งซื้อเชื้อ *Enterococcus faecalis* มาโดยระบุเป็นสายพันธุ์ ATCC 29212 ซึ่งอยู่ในรูปการทำแห้งเยือกแข็ง (lyophilization) หลังจากนั้นจะทำการฟื้นคืนชีพมาอยู่ในรูปของเหลว และจะถูกเก็บไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบจะนำมาเพาะเลี้ยงบนวุ้นเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อสามารถโตได้ดีและไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นโดยสังเกตจากลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นโคโลนีที่มีขนาด สีและรูปร่างเหมือนกัน ส่วนระยะเวลาในการสังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อบนวุ้นเลี้ยงเชื้อที่ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมเพราะสามารถเห็นจำนวนและลักษณะโคโลนีที่ขึ้นมาได้อย่างชัดเจน

การเตรียมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในการศึกษานี้เตรียมปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในคลองรากฟันมนุษย์ในการศึกษานี้วัดปริมาณเชื้อได้ 10^3 -10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากรายงานของ Siqueira และ Rôças[102] พบว่าในคลองรากฟันที่เกิดความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟันและต้องการรักษาคลองรากฟันซ้ำส่วนใหญ่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ 10^3-10^7 เซลล์ต่อ 1 คลองรากฟัน ดังนั้นจึงเลือกใช้เชื้อปริมาณนี้ในการทดสอบ แต่ในความเป็นจริงแล้วปริมาณเชื้อในคลองรากฟันมีปริมาณที่ไม่เท่ากันที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดรอยโรครอบปลายรากฟันได้ และส่วนมากการติดเชื้อในคลองรากฟันเป็นลักษณะการติดเชื้อแบบผสม คือ เกิดจากแบคทีเรียหลากหลายชนิด

ขั้นตอนการเตรียมปริมาณเชื้อ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร มีสองวิธี คือ การวัดค่าความขุ่น กับ การนับโคโลนี ในการวัดค่าความขุ่น จะทำการวัดด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ซึ่งสามารถวัดค่าความขุ่นของสารละลายเป็นค่า OD โดยเครื่องจะมีความละเอียดเป็นทศนิยม 3 ตำแหน่ง

Soukos และคณะ[81] ทำการเตรียมปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) โดยใช้ค่า OD ที่ 1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ได้ปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในการศึกษานี้ต้องการเชื้อปริมาณ 10^8 CFUต่อมิลลิลิตร จึงทำการปรับลดค่าความขุ่นลงมาดังตารางที่ 3 ซึ่งจากการทำการศึกษานำร่องเพื่อหาค่า OD พบว่าค่า OD ที่ 0.40-0.46 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เป็นค่า OD ที่เหมาะสมที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นปริมาณเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ ก่อนการทดสอบได้ทำการนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทุกครั้ง ค่า OD ที่วัดจะมีความแปรปรวนได้ขึ้นกับชนิดและขนาดของแบคทีเรียที่ทำการวัดจึงต้องทำการนับโคโลนีร่วมด้วย การนับโคโลนีในการศึกษานี้จะทำโดยการเจือจางเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่ความเข้มข้นที่เจือจางต่างกันหลอดละ 10 เท่า จากวิธีการและปริมาณแบคทีเรียที่ได้มีความเพียงพอที่จะใช้ในการทดสอบในงานวิจัยนี้ การศึกษานี้ไม่ได้ใช้วิธีดูความขุ่นแบบแมคฟาแลนท์ เพราะการใช้เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ให้ผลที่น่าเชื่อถือมากกว่าการดูความขุ่นด้วยสายตา

ตารางที่ 3 ค่า OD และปริมาณเชื้อแบคทีเรียในการศึกษานำร่อง

ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่นับได้ (CFUต่อมิลลิลิตร)
0.65	มากกว่า10^9
0.54	$2.83x10^9$
0.40	$2.88x10^8$

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในฟันเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยไม่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลาที่ค่อนข้างนานจึงต้องการภาชนะที่เป็นระบบปิดเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อระเหยออกไปหมด ในการศึกษานี้จึงดัดแปลงวิธีจากการศึกษาของ Soukos และคณะ[81] คือการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในฟันที่บรรจุในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ ผลที่ได้พบว่าหลังเวลาผ่านไป 7 วัน สามารถพบแบคทีเรียในคลองรากโดยที่ Brain heart infusion broth ไม่ระเหยออก การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียวิธีนี้ให้ข้อดีคือลดการปนเปื้อนในระหว่างการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันจะพิจารณาในส่วนของน้ำยาล้างคลองรากฟันเพียงปัจจัยเดียว ส่วนการขยายคลองรากฟัน และการใส่ยาในคลองรากฟันจะอยู่นอกเหนือวัตถุประสงค์การทดลองนี้ ในการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียจะเลือกเก็บหลังจากให้มีการเจริญเติบโต 24 ชั่วโมง จากการศึกษา Garcez และคณะ[83] ทำการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ

Proteus mirabilis และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยใช้วิธี Bioluminecent เป็นการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยศึกษาจากสีที่แสดงออกมาในภาพ หลังจากทำการกำจัดเชื้อโดยวิธีรักษาคลองรากฟันแบบปกติ PAD และการใช้ PAD ร่วมกับรักษาคลองรากฟันแบบปกติ พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียมีปริมาณลดลงมากไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อมีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมงพบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมงมีความแตกต่างกัน โดยในกลุ่มที่ใช้วิธีรักษาคลองรากฟันแบบปกติมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตกลับมามากที่สุด ส่วนในกลุ่มที่ใช้ PAD ร่วมกับรักษาคลองรากฟันแบบปกติ มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตกลับมาน้อยที่สุด จากผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างกันแต่ในความเป็นจริงอาจมีเชื้อแบคทีเรียซ่อนตัวหรือสามารถรอดพ้นจากการถูกกำจัดจากสารเคมีต่างๆได้ทำให้ผลการแสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมงมีปริมาณแตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงสนใจการเก็บตัวอย่างหลังล้างคลองรากฟันและให้มีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมง

การเตรียมฟันเพื่อดูภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จะสุ่มฟันในแต่ละกลุ่มกลุ่มละ 2 ซี่และทำการแบ่งฟันในแนวตัดตามยาว (longitudinal section) จากด้านใกล้กลาง-ไกลกลาง (mesio-distal) ของรากฟัน โดยการแบ่งใช้วิธีผ่าแบ่งฟันโดยใช้สิ่ว เพื่อให้เห็นลักษณะพื้นผิวด้านในคลองรากฟัน นำฟันที่แบ่งเสร็จแช่ในสารละลายพาราฟอมอลดิไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและทำการดึงน้ำจากชิ้นตัวอย่างด้วยเอทิลอัลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30, 50, 70, และ 100 ตามลำดับ จากนั้นนำไปเข้าเครื่องเป่าแห้งที่จุดวิกฤติ (critical point dryer) (Polaron, UK) แล้วทำการเคลือบทองด้วยเครื่อง SPI-Module™ Sputter coater (SPI, USA) ขั้นตอนเหล่านี้เป็นการเตรียมชิ้นตัวอย่างที่ใช้ดูภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ในการดูลักษณะพื้นผิวในการศึกษานี้ไม่ได้ระบุตำแหน่งที่ชัดเจนเป็นการดูโดยภาพรวมที่พบในคลองรากฟันซึ่งเป็นข้อจำกัดในการศึกษานี้ การดูชิ้นตัวอย่างนั้นใช้ชิ้นตัวอย่างที่ผ่าในแนวตามยาวเท่านั้น เพราะในชิ้นตัวอย่างที่ตัดตามแนวขวางนั้นซึ่งทางผู้วิจัยต้องการดูความลึกการซึมผ่านของแบคทีเรียในท่อเนื้อฟันแต่จากการศึกษาไม่สามารถพบเชื้อแบคทีเรียในท่อเนื้อฟัน

บทที่ 5

บทสรุป

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ภายในคลองรากฟันของระบบการฆ่าเชื้อโดยใช้แสงกระตุ้น (Photo-Activated Disinfection) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 (การศึกษานอกกาย) สามารถสรุปได้ดังนี้ คือ ในสภาวะแบคทีเรียที่อยู่ในคลองรากฟันหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 7 วัน PAD ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันไม่แตกต่างกับน้ำเกลือ ส่วนน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และน้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ไม่แตกต่างกัน และในกรณีที่ใช้ร่วมกันระหว่าง PAD กับน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 หรือน้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 พบว่า PAD ไม่มีประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์การฆ่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ในคลองรากฟันที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 7 วัน

เอกสารอ้างอิง

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol***. 1965 Sep; 20: 340-9.
2. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. ***Scand J Dent Res***. 1981 Dec; 89(6): 475-84.
3. Friedman S, Mor C. The success of endodontic therapy--healing and functionality. ***J Calif Dent Assoc***. 2004 Jun; 32(6): 493-503.
4. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. ***J Endod***. 1990 Oct; 16(10): 498-504.
5. Abou-Rass M, Bogen G. Microorganisms in closed periapical lesions. ***Int Endod J***. 1998 Jan; 31(1): 39-47.
6. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. ***J Endod***. 2002 Oct; 28(10): 689-93.
7. Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. ***Oral Microbiol Immunol***. 2003 Oct; 18(5): 285-92.
8. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. ***Int Endod J***. 1998 Jan; 31(1): 1-7.
9. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. ***Int Endod J***. 2003 Jan; 36(1): 1-11.
10. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. ***Oral Microbiol Immunol***. 2003 Apr; 18(2): 100-3.
11. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. ***Oral Surg Oral Med***

Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 Jan; 85(1): 86-93.

12. Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. ***J Clin Microbiol***. 1990 Mar; 28(3): 435-7.
13. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. ***Endod Dent Traumatol***. 1985 Oct; 1(5): 170-5.
14. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. ***J Dent Res***. 1987 Aug; 66(8): 1375-9.
15. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. ***Endod Dent Traumatol***. 1990 Aug; 6(4): 142-9.
16. Siqueira JF, Jr., Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of Enterococcus faecalis from the root canal, in vitro. ***Int Endod J***. 1997 Jul; 30(4): 279-82.
17. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. ***Eur J Oral Sci***. 2004 Jun; 112(3): 207-15.
18. Eldeniz AU, Ozer F, Hadimli HH, Erganis O. Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against Enterococcus faecalis compared with NaOCl irrigation: an ex vivo pilot study. ***Int Endod J***. 2007 Feb; 40(2): 112-9.
19. Love RM. Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. ***Int Endod J***. 2001 Jul; 34(5): 399-405.
20. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. ***J Endod***. 2004 May; 30(5): 315-20.
21. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. ***Scand J Dent Res***. 1981 Aug; 89(4): 321-8.
22. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Lin PS. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. ***Oral Surg Oral Med***

Oral Pathol. 1981 Aug; 52(2): 197-204.

23. Hulsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. ***Int Endod J***. 2003 Dec; 36(12): 810-30.
24. Zehnder M. Root canal irrigants. ***J Endod***. 2006 May; 32(5): 389-98.
25. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. ***J Endod***. 1995 Oct; 21(10): 513-5.
26. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. ***Braz Dent J***. 2002; 13(2): 113-7.
27. Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. ***Int Endod J***. 1999 Mar; 32(2): 99-102.
28. Harty F. Endodontics in Clinical Practice, third edition. London UK: Wright; 1990.
29. Siqueira JF, Jr., Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. ***J Endod***. 1998 Jun; 24(6): 414-6.
30. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. ***J Endod***. 1998 Jul; 24(7): 472-6.
31. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifacio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. ***J Endod***. 1999 Mar; 25(3): 167-71.
32. Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. ***J Endod***. 1981 Oct; 7(10): 466-9.
33. Harrison JW. Irrigation of the root canal system. ***Dent Clin North Am***. 1984 Oct; 28(4): 797-808.
34. Spangberg L, Pascon EA. The importance of material preparation for the expression of cytotoxicity during in vitro evaluation of biomaterials. ***J Endod***. 1988 May; 14(5): 247-50.
35. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. ***Int Endod J***. 2002 Sep; 35(9): 735-

9.

36. Neal RG, Craig RG, Powers JM. Effect of sterilization and irrigants on the cutting ability of stainless steel files. ***J Endod***. 1983 Mar; 9(3): 93-6.

37. Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against Enterococcus faecalis. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2007 May; 103(5): 702-6.

38. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. ***Int Endod J***. 2009 Apr; 42(4): 288-302.

39. Segura JJ, Jimenez-Rubio A, Guerrero JM, Calvo JR. Comparative effects of two endodontic irrigants, chlorhexidine digluconate and sodium hypochlorite, on macrophage adhesion to plastic surfaces. ***J Endod***. 1999 Apr; 25(4): 243-6.

40. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. ***J Endod***. 1997 Apr; 23(4): 229-31.

41. Nordbo H. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and tooth surfaces. ***Scand J Dent Res***. 1972; 80(6): 465-73.

42. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis. ***Int Endod J***. 2001 Sep; 34(6): 424-8.

43. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. ***Int Endod J***. 2001 Apr; 34(3): 184-8.

44. Menezes R, da Silva Neto UX, Carneiro E, Letra A, Bramante CM, Bernadinelli N. MTA repair of a supracrestal perforation: a case report. ***J Endod***. 2005 Mar; 31(3): 212-4.

45. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. ***Int Endod J***. 2004 Jan; 37(1): 38-41.

46. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2003 Nov; 96(5): 578-81.

47. Estrela C, Silva JA, de Alencar AH, Leles CR, Decurcio DA. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against Enterococcus faecalis--a systematic review. ***J Appl Oral Sci***. 2008 Nov-Dec; 16(6): 364-8.

48. Haimovici A, Lacatusu S, Irjicianu A, Joan E. [Ozone in endodontic therapy]. ***Stomatologia (Bucur)***. 1970 Jul-Aug; 17(4): 303-7.

49. Stabholz A, Sahar-Helft S, Moshonov J. Lasers in endodontics. ***Dent Clin North Am***. 2004 Oct; 48(4): 809-32, vi.

50. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. ***J Endod***. 2004 Nov; 30(11): 778-81.

51. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ. Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. ***Aust Endod J***. 2004 Dec; 30(3): 93-8.

52. El Karim I, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2007 Apr; 103(4): 560-9.

53. ศจี สัตยุตม์. หลักการใช้เลเซอร์ทางทันตกรรม. ว ทันต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546; 6(2): 89-95.

54. Moshonov J, Orstavik D, Yamauchi S, Pettiette M, Trope M. Nd:YAG laser irradiation in root canal disinfection. ***Endod Dent Traumatol***. 1995 Oct; 11(5): 220-4.

55. Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, et al. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. ***Lasers Surg Med***. 2006 Jun; 38(5): 468-81.

56. Triesscheijn M, Baas P, Schellens JH, Stewart FA. Photodynamic therapy in oncology. ***Oncologist***. 2006 Oct; 11(9): 1034-44.

57. Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? ***Lasers Med Sci***. 2007 Jun; 22(2): 83-91.

58. Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. ***Lasers Med Sci***. 2003; 18(1): 51-5.

59. Dickers B, Lamard L, Peremans A, Geerts S, Lamy M, Limme M, et al. Temperature rise during photo-activated disinfection of root canals. ***Lasers Med Sci***. 2007 Dec 12.

60. Saunders EM. In vivo findings associated with heat generation during thermomechanical compaction of gutta-percha. 1. Temperature levels at the external surface of the root. ***Int Endod J***. 1990 Sep; 23(5): 263-7.

61. Eliezri YD. The toluidine blue test: an aid in the diagnosis and treatment of early squamous cell carcinomas of mucous membranes. ***J Am Acad Dermatol***. 1988 Jun; 18(6): 1339-49.

62. Herlin P, Marnay J, Jacob JH, Ollivier JM, Mandard AM. A study of the mechanism of the toluidine blue dye test. ***Endoscopy***. 1983 Jan; 15(1): 4-7.

63. Miller RL, Simms BW, Gould AR. Toluidine blue staining for detection of oral premalignant lesions and carcinomas. ***J Oral Pathol***. 1988 Feb; 17(2): 73-8.

64. Burns T, Wilson M, Pearson GJ. Sensitisation of cariogenic bacteria to killing by light from a helium-neon laser. ***J Med Microbiol***. 1993 Jun; 38(6): 401-5.

65. Wilson M. Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. ***Int Dent J***. 1994 Apr; 44(2): 181-9.

66. Komerik N, Curnow A, MacRobert AJ, Hopper C, Speight PM, Wilson M. Fluorescence biodistribution and photosensitising activity of toluidine blue o on rat buccal mucosa. ***Lasers Med Sci***. 2002; 17(2): 86-92.

67. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? ***Photochem Photobiol Sci***. 2004 May; 3(5): 436-50.

68. Friedrich CL, Moyles D, Beveridge TJ, Hancock RE. Antibacterial action of structurally diverse cationic peptides on gram-positive bacteria. ***Antimicrob Agents Chemother***. 2000 Aug; 44(8): 2086-92.

69. Malik Z, Ladan H, Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. ***J Photochem Photobiol B***. 1992 Jul 15; 14(3): 262-6.

70. Soukos NS, Mulholland SE, Socransky SS, Doukas AG. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral biofilm model. ***Lasers Surg Med***. 2003; 33(3): 161-8.

71. Soukos NS, Ximenez-Fyvie LA, Hamblin MR, Socransky SS, Hasan T. Targeted antimicrobial photochemotherapy. ***Antimicrob Agents Chemother***. 1998 Oct; 42(10): 2595-601.

72. Bhatti M, MacRobert A, Henderson B, Shepherd P, Cridland J, Wilson M. Antibody-targeted lethal photosensitization of Porphyromonas gingivalis. ***Antimicrob Agents Chemother***. 2000 Oct; 44(10): 2615-8.

73. Huang Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy. ***Technol Cancer Res Treat***. 2005 Jun; 4(3): 283-93.

74. Millson CE, Wilson M, Macrobert AJ, Bedwell J, Bown SG. The killing of Helicobacter pylori by low-power laser light in the presence of a photosensitiser. ***J Med Microbiol***. 1996 Apr; 44(4): 245-52.

75. Matevski D, Weersink R, Tenenbaum HC, Wilson B, Ellen RP, Lepine G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. ***J Periodontal Res***. 2003 Aug; 38(4): 428-35.

76. Dortbudak O, Haas R, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. ***Clin Oral Implants Res***. 2001 Apr; 12(2): 104-8.

77. Wilson M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. ***Photochem Photobiol Sci***. 2004 May; 3(5): 412-8.

78. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. An alternative regimen for root canal disinfection. ***Br Dent J***. 2006 Jul 22; 201(2): 101-5; discussion 98; quiz 20.

79. Zanin IC, Goncalves RB, Junior AB, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of Streptococcus mutans biofilms to photodynamic therapy: an in vitro study. ***J Antimicrob Chemother***. 2005 Aug; 56(2): 324-30.

80. Silva Garcez A, Nunez SC, Lage-Marques JL, Jorge AO, Ribeiro MS. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of Enterococcus faecalis in vitro. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2006 Oct; 102(4): e93-8.

81. Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, et al. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. ***J Endod***. 2006 Oct; 32(10): 979-84.

82. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ. Antibacterial action of photoactivated disinfection {PAD} used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. ***J Dent***. 2006 Jul; 34(6): 363-71.

83. Garcez AS, Ribeiro MS, Tegos GP, Nunez SC, Jorge AO, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. ***Lasers Surg Med***. 2007 Jan; 39(1): 59-66.

84. Seal GJ, Ng YL, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An in vitro comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hyphochlorite irrigation on Streptococcus intermedius biofilms in root canals. ***Int Endod J***. 2002 Mar; 35(3): 268-74.

85. Bonsor SJ, Pearson GJ. Current clinical applications of photo-activated disinfection in restorative dentistry. ***Dent Update***. 2006 Apr; 33(3): 143-4, 7-50, 53.

86. Boutsioukis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E, Bekiaroglou P. Measurement of pressure and flow rates during irrigation of a root canal ex vivo with three endodontic needles. ***Int Endod J***. 2007 Jul; 40(7): 504-13.

87. Zar JH. Biostatistical analysis, second edition. Englewood Cliffs: Prentice Hall; 1995. p. 199-201

88. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, et al. Photodynamic inactivation of Enterococcus faecalis in dental root canals in vitro. ***Lasers Surg Med***. 2007 Dec; 39(10): 782-7.

89. Bergmans L, Moisiadis P, Huybrechts B, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Effect of photo-activated disinfection on endodontic pathogens ex vivo. ***Int Endod J***. 2008 Mar; 41(3): 227-39.

90. Meire MA, De Prijck K, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. Effectiveness of different laser systems to kill Enterococcus faecalis in aqueous suspension and in an infected tooth model. ***Int Endod J***. 2009 Apr; 42(4): 351-9.

91. Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. ***Int Endod J***. 2004 May; 37(5): 311-9.

92. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. ***J Endod***. 2000 Jun; 26(6): 331-4.

93. Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of

antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. ***Int Endod J***. 2003 Jun; 36(6): 423-32.

94. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2004 Jan; 97(1): 79-84.

95. Mohammadi Z, Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin in vitro. ***J Oral Sci***. 2008 Mar; 50(1): 63-7.

96. Johal S, Baumgartner JC, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. ***J Endod***. 2007 Jan; 33(1): 48-51.

97. Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. ***J Endod***. 1997 Dec; 23(12): 725-7.

98. Lleo MM, Bonato B, Tafi MC, Signoretto C, Boaretti M, Canepari P. Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. ***J Appl Microbiol***. 2001 Dec; 91(6): 1095-102.

99. Lleo MM, Pierobon S, Tafi MC, Signoretto C, Canepari P. mRNA detection by reverse transcription-PCR for monitoring viability over time in an Enterococcus faecalis viable but nonculturable population maintained in a laboratory microcosm. ***Appl Environ Microbiol***. 2000 Oct; 66(10): 4564-7.

100. Dametto FR, Ferraz CC, de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against Enterococcus faecalis. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2005 Jun; 99(6): 768-72.

101. Scelza MF, Pierro V, Scelza P, Pereira M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod***. 2004 Oct; 98(4): 499-503.

102. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. ***J Endod***. 2008 Nov; 34(11): 1291-301 e3.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ตารางผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ 4 การกระจายข้อมูลของแบคทีเรียตั้งต้นก่อนการล้างคลองรากฟัน (S1) ด้วยวิธีทดสอบ One Sample Kolmogorov-Smirnov test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			Log_before
N			60
Normal Parameters	a,b	Mean	4.2375
		Std. Deviation	.61801
Most Extreme Differences		Absolute	.061
		Positive	.052
		Negative	-.061
Kolmogorov-Smirnov Z			.471
Asymp. Sig. (2-tailed)			.979

ตารางที่ 5 ทดสอบความเป็นแบบเดียวกันของความแปรปวนก่อนการล้างคลองรากฟัน (S1) ในแต่ละกลุ่ม

Test of Homogeneity of Variances

Log_before

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.855	5	54	.118

ตารางที่ 6 ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มก่อนล้างคลองรากฟัน (S1)

ANOVA

Log_before

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.828	5	.566	1.550	.190
Within Groups	19.706	54	.365		
Total	22.534	59			

ตารางที่ 7 การกระจายข้อมูลของแบคทีเรียหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) ด้วยวิธีทดสอบ One Sample Kolmogorov-Smirnov test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			Log_after
N			60
Normal Parameters	a,b	Mean	2.0907
		Std. Deviation	2.17911
Most Extreme Differences		Absolute	.331
		Positive	.331
		Negative	-.180
Kolmogorov-Smirnov Z			2.566
Asymp. Sig. (2-tailed)			.000

ตารางที่ 8 ทดสอบความเป็นแบบเดียวกันของความแปรปวนหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) ในแต่ละกลุ่ม

Test of Homogeneity of Variances

Log_after

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.745	5	54	.001

ตารางที่ 9 ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มหลังการล้างคลองรากฟันและให้เจริญเติบโตใหม่ที่ 24 ชั่วโมง (S2) โดยใช้สถิตินอน-พารามิเตอร์ วิธี Kruskal-Wallis test

Ranks

	Group	N	Mean Rank
Log_after	1.00	10	48.10
	2.00	10	25.10
	3.00	10	18.90
	4.00	10	19.70
	5.00	10	20.70
	6.00	10	50.50
	Total	60	

Test Statistics [a,b]

	Log_after
Chi-Square	40.696
df	5
Asymp. Sig.	.000

ตารางที่ 10 ทดสอบความแตกต่างภายในกลุ่มก่อนล้างคลองรากฟันและหลังล้างคลองรากฟันและให้มีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ 24 ชั่วโมง (S2) ด้วยสถิติวิธี Wilcoxon signed Rank

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
LogG1A - LogG1B	Negative Ranks	6[a]	5.50	33.00
	Positive Ranks	4[b]	5.50	22.00
	Ties	0[c]		
	Total	10		
LogG2A - LogG2B	Negative Ranks	10[d]	5.50	55.00
	Positive Ranks	0[e]	.00	.00
	Ties	0[f]		
	Total	10		
LogG3A - LogG3B	Negative Ranks	10[g]	5.50	55.00
	Positive Ranks	0[h]	.00	.00
	Ties	0[i]		
	Total	10		
LogG4A - LogG4B	Negative Ranks	9[j]	6.00	54.00
	Positive Ranks	1[k]	1.00	1.00
	Ties	0[l]		
	Total	10		
LogG5A - LogG5B	Negative Ranks	10[m]	5.50	55.00
	Positive Ranks	0[n]	.00	.00
	Ties	0[o]		
	Total	10		
LogConA - LogConB	Negative Ranks	3[p]	4.67	14.00
	Positive Ranks	7[q]	5.86	41.00
	Ties	0[r]		
	Total	10		

Test Statistics[c]

	LogG1A - LogG1B	LogG2A - LogG2B	LogG3A - LogG3B	LogG4A - LogG4B	LogG5A - LogG5B	LogConA - LogConB
Z	-.561[a]	-2.803[a]	-2.803[a]	-2.703[a]	-2.803[a]	-1.376[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.575	.005	.005	.007	.005	.169

a. Based on positive ranks.

b. Based on negative ranks.

c. Wilcoxon Signed Ranks Test

ตารางที่ 11 ค่านัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย Log ปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังล้างคลองรากฟันและมีการเจริญเติบโตขึ้นใหม่ (S2) ของแต่ละกลุ่มด้วย multiple comparison วิธี Non –Parametric Tukey-Type

Group	Sum of Rank
1-PAD	481
2-NaOCl	251
3-CHX	189
4-NaOCl+PAD	197
5-CHX+PAD	207
Control-NSS	505

Group	Different Sum of Rank	Standard Error (SE)	q	Critical value $q_{0.05,inf,6}$	Significant
1 Vs 2	230	55.227	4.16	4.03	Yes
1 Vs 3	292	55.227	5.29	4.03	Yes
1 Vs 4	284	55.227	5.14	4.03	Yes
1 Vs 5	274	55.227	4.96	4.03	Yes
1 Vs 6	24	55.227	0.43	4.03	No
2 Vs 3	62	55.227	1.12	4.03	No
2 Vs 4	60	55.227	1.09	4.03	No
2 Vs 5	44	55.227	0.80	4.03	No
2 Vs 6	254	55.227	4.60	4.03	Yes
3 Vs 4	8	55.227	0.14	4.03	No
3 Vs 5	18	55.227	0.33	4.03	No
3 Vs 6	316	55.227	5.72	4.03	Yes
4 Vs 5	10	55.227	0.18	4.03	No
4 Vs 6	308	55.227	5.58	4.03	Yes
5 Vs 6	298	55.227	5.40	4.03	Yes

ตัวอย่างวิธีการคำนวณ multiple comparison วิธี Non-parametric Turkey-Type

1. นำ Sum of Rank ในกลุ่มที่ต้องการเปรียบเทียบมาลบกัน เช่น กลุ่มที่ 1 เทียบกับกลุ่มที่ 2 คือ 481-251= 230

2. หาค่า Standard Error (SE) จากสูตร

$$SE = sqrt \{[(n\ (n\ k)\ (n\ k + 1)] / 12)\}$$

โดยที่ n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม

k = จำนวนกลุ่ม

ได้ $SE = sqrt \{[(10\ (10x6)\ (10x6 + 1)] / 12)\}$

$= 55.227$

3. นำค่า ผลต่างของ Sum of Rank กับ SE มาคำนวณหาค่า q โดย q ได้จาก

$$q = (R_1 - R_2) / SE$$

โดยที่ R_1 = ผลรวมค่า Rank ในกลุ่มที่ 1

R_2 = ผลรวมค่า Rank ในกลุ่มที่ 2

SE = Standard Error

ได้ $q = (481-251) / 55.227 = 4.16$

4. นำค่า q ที่คำนวณได้มาเปรียบเทียบ กับ Critical Value ($q_{0.05,inf,\ 6}$) โดยค่า Critical Value ($q_{0.05,inf,6}$) ได้จากตาราง q = 4.03

หากค่า q > Critical Value ($q_{0.05,inf,\ 6}$) สรุปว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

q < Critical Value ($q_{0.05,inf,\ 6}$) สรุปว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จากตัวอย่าง q = 4.16 มากกว่า Critical Value ($q_{0.05,inf,\ 6}$) แสดงว่ากลุ่มที่ 1 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายสมชาย กิตติโชควัฒนา

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4910820011

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2545

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาภายในประเทศ โรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์ อ. เมือง จ. ประจวบคีรีขันธ์ ปีการศึกษา 2549-2551

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ทันตแพทย์ 6 กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์ อ. เมือง จ. ประจวบคีรีขันธ์