Bacterial leakage through double seal intermediate restorative materials

Titalee Jirathanyanatt[1], Ratchapin Srisatjaluk[2], Pawee Choenklang[3]

[1] Department of operative dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry, Mahidol university, Thailand.
[2] Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Thailand.
[3] Phimai Hospital, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Abstract

Objective: This study was to investigate the appropriate thickness of individual layer of double temporary filling material seal [Cavit and Intermediate Restorative Material (IRM)] to keep pulp canal free from *Streptococcus salivarius* prenetration.

Materials and Methods: A total of sixty extracted human lower premolar teeth were selected in this study. Five of intact teeth were employed as negative control group. Other fifty five teeth were endodontically treated to obtain access cavity with 4 mm-width and length and 6 mm-depth. The teeth were divided into 5 groups of test (10 teeth per group) and a positive control group (5 teeth). The access cavities being filled with 6 mm-thickness of Cavit or IRM were designated as Group 1 or Group 2, respectively. In Groups 3 to 5, the cavities were primarily filled with Cavit then overlaid with IRM so called double filling. Thickness ratio between Cavit and IRM being filled in the cavities in Group 3, 4 and 5 was 3mm./3mm., 4mm./2mm. and 2mm./4mm., respectively. Filing quality of all specimens was checked by radiography before they were stored at 37 degrees Celcius (°C) for 24 hours. The selected specimens were further undergone thermocycling (at 4°C and 55°C for 30 second each temperature) for 900 cycles. Then the tooth was fixed properly in the bottom-cut micro-centrifuge tube before carefully placed into a glass bottle containing sterile Brain Heart Infusion (BHI) broth with phenol red until the root area being dipped in the medium. Freshly cultured *Streptococcus salivarius* was suspended in BHI broth to yield $1x10^8$ microorganism/ml then 40 µl of bacterial suspension was added on the surface of the temporary filling. The specimens were incubated at 37°C with 5% CO_2 for 30 days. The fresh bacterial suspension was re-added every 48 hours. The leakage of the tested bacteria through the temporary filling was observed from color change of BHI-phenol red broth and the growth of such bacteria every day for a month. Statistical analysis was conducted by Kruskal Wallis.

Results: The least leakage of microorganism through the temporary filling material was observed from the access cavities filled with 6mm-thick Cavit whereas the highest leakage was from those of IRM. Micro-leakage of IRM was statistically higher than those of Cavit or double Cavit/IRM ($P< 0.05$). There was no significance in term of micro-leakage found among the access cavities filled with double temporary filling materials ($P> 0.05$).

Conclusion: Based on this study, the 6 mm- thick Cavit was the most effective temporary filling material that should be used to protect pulp canal from bacterial penetration over one month period.

Key words: leakage, temporary filling, Cavit, IRM, bacteria

How to cite: Jirathanyanatt T, Srisatjaluk R, Choenklang P. Bacterial leakage through double seal intermediate restorative materials. M Dent J 2015; 35: 291-98.

Correspondence author:
Titalee Jirathanyanatt
Department of operative dentistry and endodontics, Faculty of Dentistry, Mahidol university, 6 Yothi Street, Rachathewi, Bangkok 10400, Thailand
Received: 20 May 2015
Accepted: 26 October 2015

การรั่วซึมของเชื้อแบคทีเรียผ่านวัสดุอุดชั่วคราวที่อุดร่วมกันสองชนิด

ฐิตารีย์ จิรธัญญาณัฏ[1] รัชชพิน ศรีสัจจะลักษณ์[2] ภาวี เชิญกลาง[3]

[1] ภาควิชาทันตกรรมหัตถการและวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย

[2] ภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย

[3] โรงพยาบาลพิมาย จังหวัดนครราชสีมา

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อทดสอบหาความหนาที่เหมาะสมของวัสดุอุดชั่วคราวชนิดเควิทและไออาร์เอ็มเมื่อใช้อุดร่วมกันในการต้านทานการรั่วซึมของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา: ฟันกรามน้อยล่างที่มี 1 คลองรากฟันของมนุษย์ที่ถอนออกจากผู้ป่วยจำนวน 60 ซี่ กรอเปิดทางเข้าสู่โพรงฟันให้มีความลึก 6 มิลลิเมตร กว้าง 4 มิลลิเมตร ยาว 4 มิลลิเมตร แบ่งฟันออกเป็นกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ซี่ กลุ่มควบคุมบวก (ไม่อุดรูเปิดทางเข้าสู่โพรงฟัน) 5 ซี่ และกลุ่มควบคุมลบ (ไม่กรอเปิดทางเข้าสู่โพรงฟัน) 5 ซี่ กลุ่มทดลองที่ 1 อุดรูเปิดเข้าสู่โพรงฟันด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตร กลุ่มทดลองที่ 2 อุดรูเปิดเข้าสู่โพรงฟันด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตร กลุ่มทดลองที่ 3 อุดรูเปิดเข้าสู่โพรงฟันด้วยเควิทด้านใน 3 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอก 3 มิลลิเมตร กลุ่มทดลองที่ 4 อุดรูเปิดเข้าสู่โพรงฟันด้วยเควิทด้านใน 4 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอก 2 มิลลิเมตร กลุ่มทดลองที่ 5 อุดรูเปิดเข้าสู่โพรงฟันด้วยเควิทด้านใน 2 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอก 4 มิลลิเมตร นำฟันไปผ่านวงจรการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 900 รอบจากนั้นนำฟันทั้งหมดมายึดกับหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์แล้วมาใส่ในขวดแก้วเล็กทรงกระบอก ให้รากฟันจุ่มอยู่ในสารละลายฟีนอลเรด ใส่เชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิสซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท (brain heart infusion broth) ที่มีความหนาแน่นของเชื้อ $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ไว้ด้านบนวัสดุบูรณะชั่วคราว นำขวดแก้วไปอบในตู้อบเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจดูการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของสารละลายฟีนอลเรดทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน นำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยสถิติ Kruskal Wallis

ผลการศึกษา: กลุ่มที่อุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตรมีการรั่วซึมของเชื้อเข้าสู่คลองรากฟันน้อยที่สุด ในขณะที่กลุ่มที่อุดด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตรมีการรั่วซึมของเชื้อมากที่สุด กลุ่มที่อุดด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตร มีการรั่วซึมมากกว่ากลุ่มที่อุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตรและกลุ่มที่อุดด้วยเควิทร่วมกับไออาร์เอ็มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ส่วนกลุ่มที่อุดด้วยเควิทร่วมกับไออาร์เอ็มทั้งสามแบบมีการรั่วซึมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P> 0.05$)

บทสรุป: การอุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการต้านทานการรั่วซึมของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส เป็นเวลา 1 เดือน

รหัสคำ: การรั่วซึม, วัสดุอุดชั่วคราว, เควิท, ไออาร์เอ็ม, แบคทีเรีย

วิธีอ้างอิงบทความนี้: ฐิตารีย์ จิรธัญญาณัฏ. การรั่วซึมของเชื้อแบคทีเรียผ่านวัสดุอุดชั่วคราวที่อุดร่วมกันสองชนิด. ว ทันต มหิดล 2558; 35: 291-98

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
ฐิตารีย์ จิรธัญญาณัฏ
ภาควิชาทันตกรรมหัตถการและวิทยาเอ็นโดดอนต์
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
6 ถนนโยธี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ : 02-200-7825
โทรสาร : 02-200-7824
อีเมล: Titalee.jir@mahidol.ac.th
วันรับเรื่อง: 20 พฤษภาคม 2558
วันยอมรับการตีพิมพ์: 26 ตุลาคม 2558

บทนำ

การรักษาคลองรากฟันส่วนใหญ่แล้วไม่สามารถทำการรักษาให้เสร็จสิ้นในครั้งเดียว จึงมีความจำเป็นต้องใช้วัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวปิดช่องทางเข้าสู่คลองรากฟันระหว่างการรักษาแต่ละครั้ง[1,2] เพื่อป้องกันอาหารและจุลินทรีย์เข้าไปในคลองรากฟันและเพื่อให้ผู้ป่วยสามารถนำไปใช้งานได้ รวมถึงการอุดปิดภายหลังการรักษาคลองรากฟันเสร็จและรอการบูรณะฟันแบบถาวร ดังนั้นวัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวที่ดีควรมีคุณสมบัติให้ความแนบสนิทที่ดี ใช้งานง่าย รื้อออกง่าย ให้ความสวยงาม ทนต่อการสึกกร่อนและแรงบดเคี้ยว การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ มีรูพรุนน้อย และช่วยป้องกันการแตกหักของฟันในระหว่างการรักษา[1,2] ซึ่งยังไม่มีวัสดุชนิดใดมีคุณสมบัติที่กล่าวมาครบถ้วน วัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวในช่องปากมีหลายชนิด ได้แก่ ซิงค์ออกไซด์/แคลเซียมซัลเฟต (zinc oxide/calcium sulfate base material) ซึ่งเป็นวัสดุที่มีส่วนประกอบหลักเป็นซิงค์ออกไซด์และแคลเซียมซัลเฟต วัสดุในกลุ่มนี้ เช่นเควิท (Cavit; 3M ESPE, Neuss, Germany) ซึ่งเมื่อดูดซึมน้ำจะขยายตัว (linear expansion) ทำให้มีความแนบสนิทที่ดี[1,3,4] เควิทอยู่ในรูปแบบพร้อมใช้งาน ทำให้ใช้งานได้สะดวก รื้อง่ายภายหลังแข็งตัว Webber และคณะแนะนำว่า การอุดด้วยเควิทต้องมีความหนาอย่างน้อย 3.5 มิลลิเมตร จึงจะสามารถป้องกันการรั่วซึมของเชื้อแบคทีเรียได้[5] ข้อเสียของวัสดุกลุ่มนี้คือ แข็งตัวช้า ความแข็งต่ำ ไม่ต้านทานต่อการสึกกร่อน[1] จึงแนะนำให้ใช้เป็นวัสดุบูรณะชั่วคราวในโพรงฟันขนาดเล็ก และเป็นเวลาสั้นๆ

ซิงค์ออกไซด์และยูจีนอล (zinc oxide and eugenol preparations) เช่น ไออาร์เอ็ม (IRM® Intermediate Restorative Material, Dentsply Caulk, Delaware, USA) เป็นวัสดุบูรณะชั่วคราวประเภทซิงค์ออกไซด์ ยูจินอลซีเมนต์ (Zinc oxide eugenol cement) ซึ่งเสริมความแข็งแรงด้วยโพลีเมทิลเมทาคริเลท (polymethyl methacrylate) จึงเป็นวัสดุที่ต้านทานแรงขัดถูได้ดีและมีความแข็งแรงสูง รวมทั้งยังมียูจีนอลผสมในวัสดุซึ่งมีฤทธิ์ช่วยต้านแบคทีเรีย[1]

มีการศึกษาเกี่ยวกับการรั่วซึมของวัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวเป็นจำนวนมากและได้ผลการทดสอบที่แตกต่างกันไปเนื่องจากวิธีในการทดสอบ เช่น การศึกษาของ Beach และคณะ[3] ซึ่งทดสอบการรั่วซึมของแบคทีเรียในช่องปากในผู้ป่วยที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟันจำนวน 51 ซี่ และเป็นฟันที่ไม่มีการสูญเสียเนื้อฟันโดยรอบหรือบูรณะด้วยวัสดุบูรณะที่ไม่มีการรั่วซึม โดยใช้วัสดุบูรณะชั่วคราว 3 ชนิด คือ เควิท ไออาร์เอ็ม และทีอีอาร์เอ็ม อุดปิดทางเข้าสู่โพรงฟันให้มีความหนา 4 มิลลิเมตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นทำการเพาะเชื้อเพื่อดูการรั่วซึม พบว่ากลุ่มทีอีอาร์เอ็มมีการรั่วซึมของเชื้อ 4 ซี่จาก 14 ซี่ กลุ่มไออาร์เอ็มมีการรั่วซึมของเชื้อ 1 ซี่จาก 18 ซี่ ในขณะที่กลุ่มเควิทไม่พบการรั่วซึมเลยทั้ง 19 ซี่

Liberman และคณะ[2] ได้ทำการทดสอบการรั่วซึมของวัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวภายหลังการให้แรงซึ่งจำลองการบดเคี้ยวในช่องปากและใช้สารเรดิโอแอคทีฟตรวจสอบ พบว่า ในกรณีที่ไม่ให้แรงวัสดุชนิดแคลเซียมซัลเฟตมีความแนบสนิทที่ดีไม่แตกต่างจากวัสดุชนิดไออาร์เอ็ม แต่ในกลุ่มที่ให้แรงวัสดุชนิดแคลเซียมซัลเฟตมีรอยแตกในเนื้อวัสดุและมีการรั่วซึมมากกว่าวัสดุชนิดไออาร์เอ็มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ดังนั้นได้มีการแนะนำให้ใช้วัสดุชนิดแคลเซียมซัลเฟตในบริเวณที่ไม่ได้รับแรงบดเคี้ยว หรืออุดด้วยวัสดุชนิดแคลเซียมซัลเฟตด้านในเพื่อให้ได้ความแนบสนิทและอุดปิดด้านนอกด้วยไออาร์เอ็มเพื่อให้ความแข็งแรง[1,2] แต่ยังไม่มีการทดสอบหาความหนาที่เหมาะสมของวัสดุอุดแต่ละชนิดที่นำมาอุดร่วมกันเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการต้านทานการรั่วซึมดีที่สุด การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาความหนาที่เหมาะสมของวัสดุอุดชั่วคราวชนิดเควิทและไออาร์เอ็มเมื่อใช้อุดร่วมกันในการต้านทานการรั่วซึมของเชื้อ

สเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส (*Streptococcus salivarius*)

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

วัสดุอุปกรณ์

การศึกษานี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยมหิดล วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยนี้ ประกอบด้วย ฟันกรามน้อยล่างมนุษย์ที่ถอนเพื่อการจัดฟันจำนวน 60 ซี่ ฟันดังกล่าวไม่ผุ ไม่มีการบูรณะหรือรอยแตกร้าว เควิท (Cavit; 3M ESPE, Neuss, Germany) ไออาร์เอ็ม (IRM® Intermediate Restorative Material; Dentsply Caulk, Delaware, USA) เครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็น (Thermocycler TC 400, King Mongkut's Institute of technology, Ladkrabang, Thailand) เชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส (*Streptococcus salivarius)* สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 19433

วิธีการศึกษา

การเตรียมฟัน

กรอเปิดทางเข้าสู่โพรงฟันโดยใช้เครื่องกรอฟันความเร็วสูงร่วมกับหัวกรอกากเพชรรูปทรงกระบอกให้มีความลึกโดยรอบ 6 มิลลิเมตร กว้าง 4 มิลลิเมตร ยาว 4 มิลลิเมตร แบ่งฟันออกเป็น 7 กลุ่มโดยการสุ่ม

กลุ่มทดลองที่ 1 จำนวน 10 ซี่ อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิท หนา 6 มิลลิเมตร ทำการอุดโดยใส่สำลีลงไปในคลองรากฟันและระมัดระวังไม่ให้มีใยสำลีเข้ามาในโพรงฟัน วัดความสูงของโพรงฟันที่เหลือโดยรอบโดยใช้โพรบ (periodontal prob) จากนั้นทำการอุดเควิทหนา 6 มิลลิเมตร ใช้สำลีเช็ดชุบน้ำหมาดๆเช็ดที่ผิวของวัสดุอุดชั่วคราวเพื่อให้ผิวเรียบไปกับผิวฟัน

กลุ่มทดลองที่ 2 จำนวน 10 ซี่ อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยไออาร์เอ็ม หนา 6 มิลลิเมตร ทำการอุดโดยใส่สำลีลงไปในคลองรากฟัน วัดความสูงของโพรงฟันที่เหลือโดยรอบโดยใช้โพรบ จากนั้นผสมไออาร์เอ็มในอัตราส่วนผงต่อน้ำ 1:1 จนปั้นได้เป็นก้อน เวลาผสมไม่เกิน 1 นาที จากนั้นอุดไออาร์เอ็มจนเต็มโพรงฟันที่เหลือ ใช้สำลีชุบน้ำหมาดๆเช็ดที่ผิวของวัสดุอุดชั่วคราว

กลุ่มทดลองที่ 3 จำนวน 10 ซี่ อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 3 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 3 มิลลิเมตร โดยใส่สำลีลงไปในคลองรากฟัน จากนั้นทำการอุดเควิทซึ่งอยู่ด้านในก่อน โดยใช้โพรบวัดความสูงของโพรงฟันที่เหลือโดยรอบ ทำการปรับวัสดุให้ได้ความหนาที่ต้องการ จากนั้นอุดไออาร์เอ็มจนเต็มโพรงฟันที่เหลือ ใช้สำลีชุบน้ำหมาดๆเช็ดที่ผิวของวัสดุอุดชั่วคราว

กลุ่มทดลองที่ 4 จำนวน 10 ซี่ อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 4 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 2 มิลลิเมตร

กลุ่มทดลองที่ 5 จำนวน 10 ซี่ อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 2 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 4 มิลลิเมตร

กลุ่มควบคุมบวก จำนวน 5 ซี่ ไม่อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟัน เพื่อแสดงการรั่วซึม

กลุ่มควบคุมลบ จำนวน 5 ซี่ ไม่ทำการกรอเปิดทางเข้าสู่คลองรากฟัน

จากนั้นนำฟันที่เตรียมใส่ในกล่องพลาสติกมีฝาปิดซึ่งใส่สำลีชุบน้ำไว้ รอให้วัสดุแข็งตัวเต็มที่ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายภาพรังสีฟันที่เตรียมไว้ เพื่อตรวจความแน่นของวัสดุอุดโดยคัดเลือกฟันซี่ที่อุดแน่นและไม่มีช่องว่างมาใช้ทดสอบต่อไป นำฟันที่คัดเลือกไปผ่านเครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 900 รอบ นำฟันทั้งหมดมาตัดรากบริเวณใต้ต่อรอยต่อเคลือบฟันและรากฟัน 5 มิลลิเมตร โดยเครื่องกรอฟันความเร็วสูงร่วมกับหัวกรอกากเพชรรูปทรงกระบอก โดยเอาสำลีในคลองรากฟันออก จากนั้นทาน้ำยาทาเล็บ (nail varnish) 2 ชั้น โดยใช้น้ำยาทาเล็บสองสีที่แตกต่างกัน บริเวณผิว

ฟันทั้งหมดยกเว้นบริเวณที่อุดด้วยวัสดุชั่วคราวและทิ้งไว้ให้แห้ง

การทดสอบการรั่วซึมของแบคทีเรีย

นำฟันมายึดในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ (microcentrifuge) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งตัดฝาพลาสติกออก และตัดปลายออก 5 มิลลิเมตร นำฟันมาใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ ยึดบริเวณรอยต่อระหว่างฟันและหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ด้วยขี้ผึ้งชนิดเหนียว (sticky wax) จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยก๊าซเอทิลีนออกไซด์ (ethylene oxide gas) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และทิ้งให้ก๊าซระเหย 3 วัน

นำสารละลายฟีนอลเรดบรอทเบส (phenol red broth base) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วทรงกระบอกมีฝาปิดขนาด 30 มิลลิลิตร (glass vial with cap) นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน (autoclave) นำฟันที่ยึดกับหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ที่ปลอดเชื้อมาใส่ในขวดแก้วเล็กทรงกระบอก โดยให้รากฟันจุ่มอยู่ในสารละลายฟีนอลเรด 1 มิลลิเมตร และปิดฝาขวด ใช้ไมโครปิเปต (micropipette) ดูดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท (brain heart infusion broth) ที่มีความหนาแน่นของเชื้อ 1x 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ใส่ไว้ในด้านบนของช่องเปิดเข้าสู่คลองรากฟันซึ่งปิดด้วยวัสดุอุดชั่วคราวที่เตรียมไว้ ปิดฝาขวดแบบหลวมๆ นำขวดแก้วไปอบในตู้อบเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจดูการเปลี่ยนสีของสารละลายฟีนอลเรดทุก 24 ชั่วโมง จะเปลี่ยนเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิสทุก 48 ชั่วโมง โดยซับเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอทในโพรงฟันให้แห้งด้วยกระดาษซับคลองรากฟัน (paper point) แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ใส่ในช่องเปิดเข้าสู่คลองรากฟันที่เตรียมไว้ ตรวจดูการเปลี่ยนสีของสารละลายฟีนอลเรดทุกวัน ถ้ามีการซึมผ่านของเชื้อ สารละลายฟีนอลเรดบรอทเบส จะเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเหลือง จากนั้นนำสารละลายฟีนอลเรดที่เปลี่ยนสีมาเพาะเลี้ยงในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเอการ์เพลท (brain heart infusion agar plate) ในตู้อบเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน แล้วตรวจดูลักษณะของโคโลนีและย้อมสีแกรม เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส ทำการบันทึกจำนวนวันที่สารละลายฟีนอลเรดเปลี่ยนสีในแต่ละชิ้นตัวอย่างเป็นเวลา 1 เดือน

ผลการศึกษา

ในกลุ่มควบคุมบวกพบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดเป็นสีเหลืองทุกตัวอย่างภายใน 2 วัน ในกลุ่มควบคุมลบไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดตลอดระยะเวลาการทดลอง ผลการรั่วซึมของกลุ่มทดลองต่างๆแสดงในตารางที่ 1

กลุ่มทดลองที่ 1 อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตร จำนวน 10 ซี่ในสัปดาห์แรกพบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดเพียง 1 ซี่ มีการรั่วซึมเพิ่ม 2 ซี่ ในสัปดาห์ที่สอง และไม่มีการรั่วซึมเพิ่มตลอดระยะเวลาการทดสอบ 5 สัปดาห์ รวมมีการรั่วซึมทั้งหมด 3 ซี่

กลุ่มทดลองที่ 2 อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตรจำนวน 10 ซี่ ในสัปดาห์แรกพบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรด 6 ซี่ สัปดาห์ที่สองรั่วซึมเพิ่ม 1 ซี่ สัปดาห์ที่สี่มีการรั่วซึมเพิ่ม 2 ซี่ และสัปดาห์ที่ห้ารั่วซึมเพิ่ม 1 ซี่ รวมป็น 10 ซี่

กลุ่มทดลองที่ 3 อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 3 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 3 มิลลิเมตรจำนวน 10 ซี่ พบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดในสัปดาห์แรก 4 ซี่ และรั่วซึมเพิ่มในสัปดาห์ที่สี่และสัปดาห์ที่ห้าอีกสัปดาห์ละ 1 ซี่ รวมเป็น 6 ซี่

ตารางที่ 1 ผลการรั่วซึมของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส ซาไลวาลิสผ่านวัสดุอุดชั่วคราวประเภทต่างๆในระยะเวลา 5 สัปดาห์

วัสดุอุด	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	รวม
กลุ่มควบคุมบวก	5	-	-	-	-	5(100%)
กลุ่มควบคุมลบ	5	0	0	0	0	0 (0%)
กลุ่มที่ 1 C6	1	2	0	0	0	3 (30%)
กลุ่มที่ 2 I6	6	1	0	2	1	10 (100%)
กลุ่มที่ 3 C3/I3	4	0	0	1	1	6 (60%)
กลุ่มที่ 4 C4/I2	3	1	1	0	1	6 (60%)
กลุ่มที่ 5 C2/I4	4	0	0	1	0	5 (50%)

กลุ่มทดลองที่ 4 อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 4 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 2 มิลลิเมตรจำนวน 10 ซี่ พบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดในสัปดาห์แรก 3 ซี่ รั่วซึมเพิ่มในสัปดาห์ที่สอง สัปดาห์ที่สาม และสัปดาห์ที่ห้า สัปดาห์ละ 1 ซี่ รวมแล้วกลุ่มที่ 3 มีการรั่วซึมของแบคทีเรียทั้งหมด 6 ซี่

กลุ่มทดลองที่ 5 อุดรูเปิดเข้าสู่คลองรากฟันด้วยเควิทด้านในหนา 2 มิลลิเมตรและไออาร์เอ็มด้านนอกหนา 4 มิลลิเมตรจำนวน 10 ซี่ ในสัปดาห์แรกพบการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรด 4 ซี่ และรั่วซึมเพิ่มอีก 1 ซี่ในสัปดาห์ที่สี่ รวม 5 ซี่

เมื่อนำสารละลายฟีนอลเรดที่เปลี่ยนสีมาเพาะเลี้ยงในเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเอการ์เพลท(agar plate) แล้วตรวจดูลักษณะของโคโลนีและย้อมสีแกรมพบว่าเชื้อทั้งหมดเป็นเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส

จากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Kruskal Wallis test พบว่าเมื่อทดสอบเป็นเวลา 5 สัปดาห์ การป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรียระหว่างกลุ่ม 1-5 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยกลุ่มที่อุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตร มีการรั่วซึมน้อยกว่ากลุ่มที่อุดเควิทร่วมกับไออาร์เอ็มและกลุ่มที่อุดด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กลุ่มที่อุดด้วยไออาร์เอ็มหนา 6 มิลลิเมตร มีการรั่วซึมมากกว่ากลุ่มที่อุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตรและกลุ่มที่อุดด้วยเควิทร่วมกับไออาร์เอ็มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่อุดด้วยเควิทร่วมกับไออาร์เอ็มทุกแบบมีการรั่วซึมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ทดสอบการต้านทานการรั่วซึมของวัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวโดยใช้การรั่วซึมของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นวิธีที่คล้ายกับลักษณะที่เกิดขึ้นในทางคลินิก[6,7] แบคทีเรียที่เลือกมาใช้ในการทดสอบนี้คือสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส โดยเป็นเชื้อที่พบได้จำนวนมากในน้ำลาย สามารถมีชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะมีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic bacteria)[8] สามารถสลายน้ำตาลกลูโคสที่อยู่ในสารละลายฟีนอลเรดและสร้างกรดขึ้นมาได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายฟีนอลเรดจากสีแดงเป็นสีเหลือง ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการรั่วซึมของแบคทีเรีย ทำให้การอ่านผลทำได้ง่าย[8] จากการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมบวกมีการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดเป็นสีเหลืองทุกตัวอย่าง ซึ่งแสดงว่าเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสซาไลวาลิส สามารถซึมผ่านโพรงฟันที่ไม่ได้รับการอุดปิดด้วยวัสดุบูรณะฟันแบบชั่วคราวเข้าสู่คลองรากฟันได้จริง และในกลุ่มควบคุมลบไม่พบมีการเจริญเติบโตของเชื้อและการเปลี่ยนสีของฟีนอลเรดเป็นสีเหลืองทุกตัวอย่าง แสดงว่าเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส ซาไลวาลิสไม่

สามารถซึมผ่านฟันธรรมชาติที่ไม่ได้เปิดโพรงฟันและขี้ผึ้งเหนียวที่อุดปิดช่องว่างรอบฟันได้จริง

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นการจำลองสถานการณ์ที่เกิดขึ้นจริงในช่องปากซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจากอาหารและเครื่องดื่ม[9] โดยอุณหภูมิที่ต่ำมีค่าเฉลี่ย 6.6 องศาเซลเซียส แต่จากการศึกษาต่างๆ ที่มีการใช้เครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็น พบว่าอุณหภูมิต่ำที่ใช้ในการทดสอบส่วนใหญ่อยู่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงคือ 55.5 องศาเซลเซียส การศึกษานี้จึงใช้เครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 900 รอบ โดยจำนวนรอบกำหนดจากแต่ละมื้ออาหารมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 10 รอบ รอบละ 30 วินาที[9]

ผลการศึกษานี้พบว่าในกลุ่มที่อุดด้วยเควิทมีการรั่วซึมของเชื้อน้อยที่สุด เนื่องจากเควิทเมื่อดูดซึมน้ำจะมีการขยายตัวสูงและทำให้เกิดความแนบสนิทที่ดี[1,10,11] กลุ่มที่อุดด้วยไออาร์เอ็มมีการรั่วซึมมากที่สุด โดยรั่วซึมมากที่สุดในสัปดาห์แรก และรั่วซึมทุกซี่ภายในสัปดาห์ที่ 5 สอดคล้องกับการศึกษาของ Pieper และคณะ[12] ที่พบว่าภายหลังการผ่านวงจรการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นแล้ว ไออาร์เอ็มมีการรั่วซึมของสีมากกว่าเควิท จากการศึกษา พบว่า ไออาร์เอ็มมีพื้นผิวที่ร่วนซุย หลังผ่านวงจรการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็น ทำให้ความสามารถในการต้านทานการรั่วซึมต่ำ

แม้ว่าไออาร์เอ็มจะมีความแนบสนิทด้อยกว่าเควิท แต่ไออาร์เอ็มมีส่วนผสมของยูจีนอลซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลชีพและคาดว่าสารต้านจุลชีพนี้สามารถฆ่าจุลชีพที่รั่วซึมผ่านวัสดุบูรณะฟันดังกล่าว[1] แต่จากการศึกษานี้ พบว่า ยูจีนอลที่ผสมในไออาร์เอ็มไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายแบคทีเรียที่รั่วซึมผ่านวัสดุนี้ Barthelและคณะ[11] ทดสอบการรั่วซึมของแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ผ่านเควิทและไออาร์เอ็มหนา 4 มิลลิเมตร พบว่าการต้านทานต่อการรั่วซึมของแบคทีเรียของทั้งเควิทและไออาร์เอ็มไม่แตกต่างกัน และการทดสอบในคลินิกของ Beach และคณะ[3] ซึ่งปิดโพรงฟันด้วยเควิทหรือไออาร์เอ็มหนา 4 มิลลิเมตรเป็นเวลา 3 สัปดาห์พบว่าทั้งเควิทและไออาร์เอ็มสามารถต้านทานการรั่วซึมของแบคทีเรียได้ไม่แตกต่างกัน ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Balto[13] ที่พบว่าเมื่ออุดไออาร์เอ็มหนา 3.5 มิลลิเมตร เชื้อแบคทีเรียสามารถรั่วซึมได้ภายใน 10 วัน ในขณะที่เควิทสามารถต้านการรั่วซึมของแบคทีเรียได้ถึง 2 สัปดาห์ การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Balto นั่นคือ การอุดด้วยเควิท 6 มิลลิเมตร สามารถป้องกันการรั่วซึมได้ดีกว่าการอุดด้วยไออาร์เอ็ม 6 มิลลิเมตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุที่ผลการศึกษาแตกต่างกันอาจจะเนื่องจากว่าความหนาของวัสดุที่ใช้แตกต่างกัน การผสมไออาร์เอ็มแต่ละครั้งอาจทำให้มีปริมาณยูจีนอลที่ถูกปล่อยออกมาแตกต่างกัน รวมทั้งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบอาจมีความไวต่อยูจีนอลแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม วัสดุอุดชั่วคราวที่มีคุณลักษณะป้องกันการรั่วซึมได้ดีและมีความแข็งแรงสามารถต้านทานแรงบดเคี้ยว ยังคงเป็นตัวเลือกที่แนะนำ ดังนั้น การศึกษาประสิทธิภาพของการอุดโพรงฟันด้วยวัสดุอุดชั่วคราวร่วมกันสองชนิดระหว่างเควิทและไออาร์เอ็มจึงน่าสนใจ เนื่องจากอุดด้วยเควิทด้านในเพื่อความแนบสนิทและอุดด้านนอกด้วยไออาร์เอ็มเพื่อความแข็งแรง การอุดด้วยวัสดุทั้งสองชนิดร่วมกันทำให้ได้คุณสมบัติที่ดีของวัสดุทั้งสองชนิด และการใช้เควิทอุดด้านล่างยังทำให้การรื้อวัสดุอุดชั่วคราวทำได้ง่ายมากกว่าการอุดด้วยไออาร์เอ็มชนิดเดียว

บทสรุป

การศึกษานี้พบว่าการอุดด้วยเควิทหนา 6 มิลลิเมตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรียสู่คลองรากฟันได้ดีที่สุด

Funding: หลักสูตรการฝึกอบรมทันตแพทย์เฉพาะทาง สาขาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการและวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Competing interest: ไม่มี

Ethical approval: คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยมหิดล (COE. No. MU-DT/PY-IRB 2013/009.1303)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา และเจ้าหน้าที่หน่วยวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Reference

1. Naoum HJ, Chandler NP. Temporization for endodontics. ***Int Endod J*** 2002 Dec; 35: 964-78.
2. Liberman R, Ben-Amar A, Frayberg E, Abramovitz I, Metzger Z. Effect of repeated vertical loads on microleakage of IRM and calcium sulfate-based temporary fillings. ***J Endod*** 2001; 27: 724-9.
3. Beach CW, Calhoun JC, Bramwell JD, Hutter JW, Miller GA. Clinical evaluation of bacterial leakage of endodontic temporary filling materials. ***J Endod*** 1996; 22: 459-62.
4. Deveaux E, Hildelbert P, Neut C, Romond C. Bacterial microleakage of Cavit, IRM, TERM, and Fermit: a 21-day in vitro study. ***J Endod*** 1999; 25: 653-9.
5. Webber RT, del Rio CE, Brady JM, Segall RO. Sealing quality of a temporary filling material. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol*** 1978; 46: 123-30.
6. Verissimo DM, do Vale MS. Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. ***J Oral Sci*** 2006; 48: 93-8.
7. Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan WR. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. ***J Endod*** 2001; 27: 36-9.
8. Maltezos C, Glickman GN, Ezzo P, He J. Comparison of the sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as root-end filling materials: a bacterial leakage study. ***J Endod*** 2006; 32: 324-7.
9. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. ***J Dent*** 1999; 27: 89-99.
10. Kazemi RB, Safavi KE, Spangberg LS. Assessment of marginal stability and permeability of an interim restorative endodontic material. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol*** 1994; 78: 788-96.
11. Barthel CR, Strobach A, Briedigkeit H, Gobel UB, Roulet JF. Leakage in roots coronally sealed with different temporary fillings. ***J Endod*** 1999; 25: 731-4.
12. Pieper CM, Zanchi CH, Rodrigues-Junior SA, Moraes RR, Pontes LS, Bueno M. Sealing ability, water sorption, solubility and toothbrushing abrasion resistance of temporary filling materials. ***Int Endod J*** 2009; 42: 893-9.
13. Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. ***J Endod*** 2002; 28: 762-4.