บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง

1. ประชากรเป้าหมาย

   ฟันแท้ของมนุษย์ที่ผ่านการบูรณะ

2. ประชากรที่ศึกษา

   ฟันกรามแท้ของมนุษย์ที่ไม่มีรอยผุหรือรอยร้าว

3. กลุ่มตัวอย่าง

   ฟันกรามแท้ของมนุษย์ที่ถอนมาแล้วในช่วง 1-6 เดือน ไม่มีรอยผุหรือรอยร้าว

4. เกณฑ์การคัดเข้า

   4.1 ฟันกรามแท้ของมนุษย์ที่ไม่มีรอยผุหรือรอยร้าว

   4.2 ถอนมาแล้วอย่างน้อย 1 เดือนและไม่เกิน 6 เดือน

5 เกณฑ์การคัดออก

   5.1 ฟันกรามแท้ของมนุษย์ที่มีรอยผุหรือรอยร้าว

   5.2 ถอนมาแล้วไม่ถึง 1 เดือนหรือเกินกว่า 6 เดือน

6 ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

ขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยนี้ คำนวณโดยอ้างอิงจากผลการวิจัยนำร่อง 3 (ภาคผนวก ก) และกำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ไม่ยอมรับทั้งที่สมมุติฐานเป็นจริง (type I error, α) เท่ากับ 0.05 และค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับทั้งที่สมมุติฐานไม่เป็นจริง (type II error, β) เท่ากับ 0.2 โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม} = \frac{2(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \ Sp^2}{D^2}$$

โดย

Z_α	=	1.96
Z_β	=	1.28
Sp^2	=	$(S_1^2 + S_2^2) / 2$ (กรณี $n_1 = n_2$)
S	=	ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ยการรั่วซึม
D	=	ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการรั่วซึม

นำข้อมูลค่าการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบฟัน และการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบรากฟันเมื่อแช่ฟันตัวอย่างนาน 14 วัน ของสารยึดเรซิน 2 กลุ่ม คือ Single Bond, Clearfil Mega Bond (ตารางที่ 14 ภาคผนวก ก)จาก

ผลการทดลองพบว่ากลุ่ม Single Bond มีค่าการรั่วซึมด้านเคลือบฟันเฉลี่ย 0.098±0.051 มิลลิเมตร ส่วน Clearfil Mega Bond มีค่าการรั่วซึมด้านเคลือบฟันเฉลี่ย 0.157±0.071 มิลลิเมตร ด้านเคลือบรากฟัน กลุ่ม Single Bond มีค่าการรั่วซึมด้านเคลือบรากฟันเฉลี่ย 0.483±0.285 มิลลิเมตร ส่วน Clearfil Mega Bond มีค่าการรั่วซึมด้านเคลือบรากฟันเฉลี่ย 0.343±0.120 มิลลิเมตร นำมาคำนวณจำนวนตัวอย่างทีละคู่ ดังนี้

ทางด้านเคลือบฟัน จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม $= \dfrac{2(1.96+1.28)^2\,[(0.051)^2+(0.071)^2]/2}{(0.098-0.157)^2}$

$= 29.67$

ทางด้านเคลือบรากฟัน จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม $= \dfrac{2(1.96+1.28)^2\,[(0.285)^2+(0.120)^2]/2}{(0.483-0.343)^2}$

$= 94.28$

จำนวนตัวอย่างที่คำนวณได้สูงสุด 95 ตัวอย่างต่อกลุ่ม และจากการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการรั่วซึมของสารยึดเรซิน มีการใช้ขนาดตัวอย่างต่างกัน ดังนี้

- 6 ตัวอย่าง (Al-Jazairy and Louka, 1999)
- 8 ตัวอย่าง (Göhring et al., 2004)
- 10 ตัวอย่าง (Pameijer and Wendt, 1995; Leevailoj et al.,2001)
- 14 ตัวอย่าง (Torii et al.,1989)
- 15 ตัวอย่าง (Piemjai et al.,2004)

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้จำนวนตัวอย่าง 10 ตัวอย่างต่อกลุ่ม เนื่องจากการนำผลจากผลวิจัยนำร่องซึ่งใช้สารยึดเรซินเพียง 2 กลุ่มมาคำนวณ อาจทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มน้อย ผลการคำนวณที่ได้จึงต้องใช้จำนวนตัวอย่างมาก แต่ในการทดลองจริงใช้สารยึดเรซิน 15 กลุ่ม ซึ่งจากผลการศึกษาที่ผ่านมาใช้จำนวนตัวอย่าง 6-15 ตัวอย่างก็สามารถพบความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละ 10 ตัวอย่าง

สิ่งแทรกแซง (Intervention)

ตอนที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการรั่วซึมของฟันที่อุดด้วยวัสดุบูรณะคลาสไฟฟ์เมื่อใช้สารยึดเรซินชนิดต่างๆกัน โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 15 กลุ่มดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงการจัดแบ่งกลุ่มทดลอง

กลุ่ม	สารยึดเรซิน	วัสดุบูรณะ	แบบจำลองการเกิดฟันผุ
1	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 10 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ไม่ผ่าน
2	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 30 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ไม่ผ่าน
3	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 60 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ไม่ผ่าน
4	Super-Bond D-Liner II PLUS	อะมัลกัม	ไม่ผ่าน
5	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 10 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
6	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 30 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
7	Super-Bond C&B ปรับสภาพฟัน 60 วินาที	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
8	Super-Bond D-Liner II PLUS	อะมัลกัม	ผ่าน
9	AQ Bond	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
10	Single Bond II	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
11	Clearfil Protect Bond	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
12	All-Bond 2	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
13	Clearfil Mega Bond	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
14	Single Bond	เรซินคอมโพสิต	ผ่าน
15	ไม่ใช้สารยึดเรซิน	อะมัลกัม	ผ่าน

ตอนที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะชั้นรอยต่อระหว่างฟันกับสารยึดเรซินกลุ่มต่างๆ ของตอนที่ 1 โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนส่องกราด ซึ่งเตรียมชิ้นงาน 2 แบบคือ

- ส่องดูรอยต่อระหว่างฟันกับสารยึดเรซินกลุ่มต่างๆ ภายหลังการขัดเรียบ
- ส่องดูรอยต่อระหว่างฟันกับสารยึดเรซินกลุ่มต่างๆ ภายหลังการแช่สารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เพื่อศึกษาคุณภาพของชั้นไฮบริด (Nakabayashi and Pashley, 1998: 59-62)

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 ตู้แช่แข็งภายใต้ความเย็นจัด (Puffer Hubbard, Harris Manufacturing Co., USA.) ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส

1.2 เครื่องกรอฟันเคลื่อนที่ (mobile unit รุ่น Supermobile 85, Thai dental Products Co., Thailand)

1.3 ด้ามกรอฟันแบบเร็ว (high speed handpiece รุ่น Super-Torque 640C, Kavo, Germany)

1.4 periodontal probe

1.5 นาฬิกาจับเวลา

1.6 เครื่องมืออุดเรซินคอมโพสิต

1.7 เครื่องมืออุดอะมัลกัม

1.8 เครื่องปั่นอะมัลกัม (Amalgamator รุ่น Mixomat, Degussa, Degussa AG, Germany)

1.9 เครื่องฉายแสง (Elipar Trilight, 3M, USA.)

1.10 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator รุ่น Contherm 160M, Contherm scientific Ltd., New Zealand) ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

1.11 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter รุ่น 420A, ATI Orion, USA.)

1.12 เครื่องชั่งสาร (Sartorius Basic^{plus} model BP110S, Sartorius AG, Germany)

1.13 เครื่องกรอช้า (micro-motor รุ่น Marathon-3, Marathon, Korea)

1.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์

1.15 กล้องจุลทรรศน์ (Nikon Eclipse Model E 400 Pol, Nikon, Japan)

1.16 กล้องถ่ายภาพ (Nikon 990, Nikon, Japan)

1.17 โปรแกรมประมวลผลภาพ (Image-Pro plus 4.5)

1.18 โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ (SPSS 11.5)

1.19 กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนส่องกราด (Scanning microscope รุ่น JSM-5410LV, Jeol Ltd., Japan)

1.20 เครื่องทำความสะอาดด้วยคลื่นไฟฟ้า (Ultrasonic Cleaner) รุ่น 5210, BRANSONIC Germany

2. **วัสดุที่ใช้ในการทดลอง**

2.1 หัวกรอเร็วคาร์ไบด์แบบหัวตรงปลายตัด (010, Dentaires, Zurich, Switzerland)

2.2 หัวกรอเร็วกากเพชรความละเอียด 100 ไมครอน (204, Intensiv, Grancia, Switzerland)

2.3 หัวกรอกากเพชรชนิดขัดละเอียด 8 ไมครอน (4205, Intensiv, Grancia, Switzerland)

2.4 หัวกรอหินสีขาว

2.5 หัวกรอกากเพชรรูปวงล้อหนา 0.15 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 19 มิลลิเมตร ความละเอียด 100 ไมครอน (273D, Intensiv, Grancia, Switzerland)

2.6 สารยึดเรซินชนิดโฟร์เมตาเอ็มเอ็มเอทีบีบี (Super-Bond C&B cement, Sun Medical, Shiga, Japan)

2.7 สารยึดเรซิน AQ Bond (Sun Medical, Shiga, Japan)

2.8 สารยึดเรซิน Single Bond 2 (3M , St. Paul, MN, USA.)

2.9 สารยึดเรซิน Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan)

2.10 สารยึดเรซิน All-Bond 2 (Bisco, Inc., IL, USA.)

2.11 สารยึดเรซิน Clearfil Mega Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan)

2.12 สารยึดเรซิน Single Bond (3M , St. Paul, MN, USA)

2.13 สารยึดเรซิน Super-Bond C&B cement (Sun Medical, Shiga, Japan)

2.14 สารยึดเรซิน Super-Bond D-Liner II PLUS (Sun Medical, Shiga, Japan)

2.15 เรซินคอมโพสิต (Metafil, Sun Medical, Shiga, Japan)

2.16 อะมัลกัม (Dispersalloy, DENTSPLY Caulk, DENTSPLY International Inc., Milford, DE, USA.)

2.17 สารละลายบัฟเฟอร์แลคติก 0.1 โมล (buffer lactic acid) มีค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 และคงสภาพค่าความเป็นกรดด่างขณะแช่ฟันได้นาน 14 วัน (ภาคผนวก ก การวิจัยนำร่อง 3)

2.18 น้ำลายเทียม (Artificial saliva ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ ซึ่งมีค่าความเป็นกรดด่าง 6.68-7 และมีองค์ประกอบดังนี้ Potassium chloride BP 37.5 mg., Magnesium chloride BP 30528 mg., Calcium chloride BP 90972 mg., Dipotassium hydrogen phosphate USP 48.23 mg., Potassium dihydrogen phosphate 21.79 mg., Sodium fluoride BP 0.258 mg., Sodium carboxymethylcellulose BP 0.38 mg., Sorbital BP 1.8 mg., Sodium benzoate 0.12 g., Carmoisine Water)

2.19 น้ำยาทาเล็บ (Revlon nail enamel, Bangkok, Thailand)

2.20 ขี้ผึ้งเหนียว (Sticky wax)

2.21 สารละลายเบสิกฟุชชินเข้มข้นร้อยละ 0.5

2.22 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมล

2.23 สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 1

2.24 กระดาษซิลิกอนคาร์ไบด์ความละเอียด 400, 600, 800, 1000, 1200 และ 2000

2.25 ผงขัดอะลูมินาขนาด 0.05 ไมครอน

2.26 กาวดินน้ำมัน (Blu-Tack, Bostik Australia, Australia)

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

1. **การคัดเลือกตัวอย่างจากประชากรที่ศึกษา**

นำฟันกรามแท้ของมนุษย์ที่ถอนมาแล้วในช่วง 1-6 เดือนและเก็บในน้ำที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำความสะอาดโดยล้างคราบเลือดและน้ำลาย คัดเลือกฟันไม่มีรอยผุหรือรอยร้าวจำนวน 44 ซี่ แล้วกำจัดเนื้อเยื่อที่ติดอยู่บนรากฟันด้วยใบมีด

2. **การจัดกลุ่มตัวอย่างเข้าศึกษา**

โดยใช้วิธีสุ่มแบ่งฟันจำนวน 44 ซี่ออกเป็น 2 ชุด คือ

ชุดที่ 1 จำนวน 40 ซี่ กำหนดด้านอย่างสุ่มเป็นกลุ่มทดลอง 15 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ด้านใช้ทดสอบการรั่วซึมในตอนที่ 1

ชุดที่ 2 จำนวน 4 ซี่ กำหนดด้านอย่างสุ่มเป็นกลุ่มทดลอง 15 กลุ่ม กลุ่มละ 1 ด้าน ใช้ศึกษาลักษณะชั้นรอยต่อระหว่างฟันกับสารยึดเรซินในตอนที่ 2

3. **การเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อทดสอบ**

3.1 ก่อนกรอนำฟันออกมาเก็บไว้ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 23±2 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง

3.2 กำหนดตำแหน่งโพรงฟันโดยวาดด้วยดินสอเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 3x2 มิลลิเมตร บนด้านใกล้แก้ม ใกล้ลิ้น ใกล้กลางและด้านไกลกลาง ความกว้างในแนวระนาบ 3 มิลลิเมตร กำหนดตำแหน่งให้อยู่เหนือและใต้ต่อรอยต่อเคลือบฟันและเคลือบรากฟันอย่างละ 1 มิลลิเมตร ลักษณะของขอบโพรงฟันด้านหนึ่งอยู่บนเคลือบฟันและอีกด้านอยู่บนเคลือบรากฟัน

3.3 กรอโพรงฟันคลาสไฟฟ์โดยใช้หัวกรอเร็วคาร์ไบด์แบบหัวตรงปลายตัด (O10, Dentaires) กับด้ามกรอฟันแบบเร็วและมีน้ำหล่อเย็นตลอดเวลา กรอนำ (depth cut) ให้ได้ความลึก

1.5 มิลลิเมตร จากนั้นใช้หัวกรอเร็วกากเพชรความละเอียด 100 ไมครอน (204, Intensiv) กรอขยายให้ได้โพรงฟันกว้างในแนวระนาบ 3 มิลลิเมตรและในแนวดิ่ง 2 มิลลิเมตร ลึก 1.5 มิลลิเมตร ลักษณะของขอบโพรงฟันด้านหนึ่งอยู่บนเคลือบฟันและอีกด้านอยู่บนเคลือบรากฟัน ห่างจากรอยต่อเคลือบฟันและเคลือบรากฟันอย่างละ 1 มิลลิเมตร

3.4 กรอทำสัญลักษณ์ไว้ที่บริเวณรากฟันเพื่อกำหนดว่าเป็นกลุ่มใด

3.5 นำฟันที่กำหนดแต่ละด้านเป็นแต่ละกลุ่มเรียบร้อยแล้วมาบูรณะโดยใช้สารยึดเรซินต่างๆกันดังนี้

3.5.1 *กลุ่มที่ 1 และ 5 ใช้สารยึดเรซิน Super-Bond C&B* โดยใช้ฟองน้ำจุ่ม green activator (สารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 3 ในกรดซิตริก ร้อยละ 10) ใส่ในโพรงฟันนาน 10 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาที เป่าลมให้แห้ง 10 วินาที ผสมโมโนเมอร์ 4 หยดกับตัวเร่งปฏิกิริยา 1 หยด ในหลุมกระเบื้องที่เย็น ใช้พู่กันผสมให้เข้ากันแล้วนำส่วนเหลวที่ได้ไปทาในโพรงฟันให้ชุ่มทั่ว จากนั้นใช้พู่กันจุ่มในส่วนเหลว (โมโนเมอร์รวมกับตัวเร่งปฏิกิริยา) แล้วนำไปแตะในส่วนผง (PMMA powder) แล้วทาลงบนผิวฟัน ทำซ้ำอีกครั้งอุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.2 *กลุ่มที่ 2 และ 6 ใช้สารยึดเรซิน Super-Bond C&B* โดยใช้ฟองน้ำจุ่ม green activator (สารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 3 ในกรดซิตริก ร้อยละ 10) ใส่ในโพรงฟันนาน 30 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาที เป่าลมให้แห้ง 10 วินาที ผสมโมโนเมอร์ 4 หยดกับตัวเร่งปฏิกิริยา 1 หยด ในหลุมกระเบื้องที่เย็น ใช้พู่กันผสมให้เข้ากันแล้วนำส่วนเหลวที่ได้ไปทาในโพรงฟันให้ชุ่มทั่ว จากนั้นใช้พู่กันจุ่มในส่วนเหลว (โมโนเมอร์รวมกับตัวเร่งปฏิกิริยา) แล้วนำไปแตะในส่วนผง (PMMA powder) แล้วทาลงบนผิวฟัน ทำซ้ำอีกครั้งอุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.3 *กลุ่มที่ 3 และ 7 ใช้สารยึดเรซิน Super-Bond C&B* โดยใช้ฟองน้ำจุ่ม green activator (สารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 3 ในกรดซิตริก ร้อยละ 10) ใส่ในโพรงฟันนาน 60 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาที เป่าลมให้แห้ง 10 วินาที ผสมโมโนเมอร์ 4 หยดกับตัวเร่งปฏิกิริยา 1 หยด ในหลุมกระเบื้องที่เย็น ใช้พู่กันผสมให้เข้ากันแล้วนำส่วนเหลวที่ได้ไปทาในโพรงฟันให้ชุ่มทั่ว จากนั้นใช้พู่กันจุ่มในส่วนเหลว (โมโนเมอร์รวมกับตัวเร่งปฏิกิริยา) แล้วนำไปแตะในส่วนผง (PMMA powder) แล้วทาลงบนผิวฟัน ทำซ้ำอีกครั้งอุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.4 *กลุ่มที่ 4 และ 8 ใช้สารยึดเรซิน Super-Bond D-Liner II PLUS* ใช้ฟองน้ำจุ่ม green activator (สารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 3 ในกรดซิตริก ร้อยละ 10) ใส่ในโพรงฟัน นาน 10 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาทีเป่าลมให้แห้ง 10 วินาที (เริ่มปั่นอะมัลกัมก่อนผสม base กับ catalyst) ผสม Super-bond D-Liner II PLUS Base 2 หยดกับตัวเร่งปฏิกิริยา 1 หยดในหลุมกระเบื้องภายใน 5 วินาที ทาผิวฟัน จากนั้นใช้พู่กันจุ่มในส่วนเหลว (โมโนเมอร์รวมกับตัวเร่งปฏิกิริยา) แล้วนำไปแตะในส่วนผง (PMMA powder) แล้วทาลงบนผิวฟัน ทำซ้ำอีกครั้ง อุดทับด้วยอะมัลกัม แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน

3.5.5 *กลุ่มที่ 9 ใช้สารยึดเรซิน AQ Bond* หยดเอคิวบอนด์ 1 หยดลงบนชิ้นฟองน้ำเอคิวนำมาทาที่ผิวฟัน 20 วินาทีแล้วเป่าลมเบาๆ 5 วินาที ทาที่ผิวฟันซ้ำอีกครั้ง แล้วเป่าลมเบาๆ 10 วินาที ฉายแสง 10 วินาที อุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.6 *กลุ่มที่10 ใช้สารยึดเรซิน Single Bond 2* ทาเจลกรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 (Scotchbond^{TM}) ในโพรงฟัน15 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาที ซับด้วยกระดาษซับให้ผิวฟันมีลักษณะชื้น ทาซิงเกิลบอนด์ที่ผิวฟันโดยถูอย่างต่อเนื่อง 15 วินาที เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ฉายแสง 10 วินาที อุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.7 *กลุ่มที่ 11 ใช้สารยึดเรซิน Clearfil Protect Bond* ทาไพรเมอร์ 20 วินาที เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ทาบอนดิงที่ผิวฟันให้ทั่ว เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ฉายแสง 10 วินาที อุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.8 *กลุ่มที่ 12 ใช้สารยึดเรซิน All-Bond 2* ทาเจลกรดฟอสฟอริกร้อยละ 32 (UNI-ETCH gel^{TM}) 15 วินาที ล้างน้ำออก 15 วินาที เป่าลมเบาๆ 2 วินาที ให้ผิวฟันมีลักษณะชื้น หยดไพรเมอร์เอและบีด้วยอัตราส่วน 1:1 ลงในถ้วยผสม คนให้เข้ากันภายใน 3 วินาที ทาที่ผิวฟัน 5 ชั้น เป่าลม 5 วินาที จะเห็นผิวฟันเป็นมันเงา ถ้าไม่เป็นมันเงาให้ทาซ้ำอีก ทา Dentin/Enamel Bonding Resin ฉายแสง 20 วินาที อุดทับด้วยเรซิน คอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.9 *กลุ่มที่ 13 ใช้สารยึดเรซิน Clearfil Mega Bond* ทาไพรเมอร์ 20 วินาที เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ทาบอนดิงที่ผิวฟันให้ทั่ว เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ฉายแสง 10 วินาทีอุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.10 *กลุ่มที่ 14ใช้สารยึดเรซิน Single Bond* ทาเจลกรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 (Scotchbond™) ในโพรงฟัน15 วินาที ล้างน้ำออก 10 วินาที ซับด้วยกระดาษซับให้ผิวฟันมีลักษณะชื้น ทาซิงเกิลบอนด์ที่ผิวฟัน 2 ชั้น เป่าลมเบาๆ 5 วินาที ฉายแสง 10 วินาที อุดทับด้วยเรซินคอมโพสิต แต่งให้เสมอขอบโพรงฟัน ฉายแสง 60 วินาที

3.5.11 *กลุ่มที่ 15 ไม่ใช้สารยึดเรซินใดๆ* อุดด้วยอะมัลกัม

3.6 แช่ฟันตัวอย่างที่บูรณะแล้วทั้งหมดในน้ำกลั่น เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.7 กลุ่มที่บูรณะด้วยเรซินคอมโพสิตนำมาขัดบริเวณขอบให้เรียบโดยใช้หัวกรอกากเพชรชนิดขัดละเอียด 8 ไมครอน (4205, Intensiv)

3.8 กลุ่มที่บูรณะด้วยอะมัลกัม นำมาขัดบริเวณขอบให้เรียบโดยใช้หัวกรอหินสีขาว

3.9 ทิ้งให้แห้งในอากาศ เคลือบตัวฟันทั้งหมดด้วยน้ำยาทาเล็บ ยกเว้นบริเวณชิ้นคอมโพสิตและขอบใกล้ด้านบดเคี้ยว (occlusal margin) และขอบใกล้เหงือก (gingival margin) ห่างขอบโพรงฟันออกไป 1 มิลลิเมตร ทิ้งไว้ให้น้ำยาทาเล็บแห้ง 30 นาที แล้วทาทับอีกชั้น ทิ้งไว้ให้แห้งอีก 30 นาที ปิดรูเปิดปลายรากฟันด้วยขี้ผึ้งเหนียว

3.10 การผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุ

3.10.1 ชุดที่ 1 นำฟันตัวอย่างกลุ่มที่ 1-4 ไปแช่ในน้ำลายเทียมกลุ่มละ 75 มิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วันโดยเปลี่ยนน้ำลายเทียมทุก 5 วัน เก็บฟันทุกกลุ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.10.2 ชุดที่ 2 นำฟันตัวอย่างกลุ่มที่ 5-15 ไปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์แลคติกกลุ่มละ 75 มิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วันในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.11 หลังจากแช่ฟันครบตามเวลาที่กำหนด นำฟันทั้งหมดขึ้นล้างน้ำสะอาด ซับให้แห้ง

3.12 นำฟันที่นำมาใช้ทดสอบในตอนที่ 1 จำนวน 40 ซี่ มาแช่ในสารละลายเบสิกฟุชซินเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก ให้ปลายรากฟันอยู่เหนือสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.13 ล้างคราบสีบนฟันตัวอย่างทั้งหมดด้วยน้ำสะอาดที่ไหลเป็นเวลา 1 นาที ซับให้แห้ง

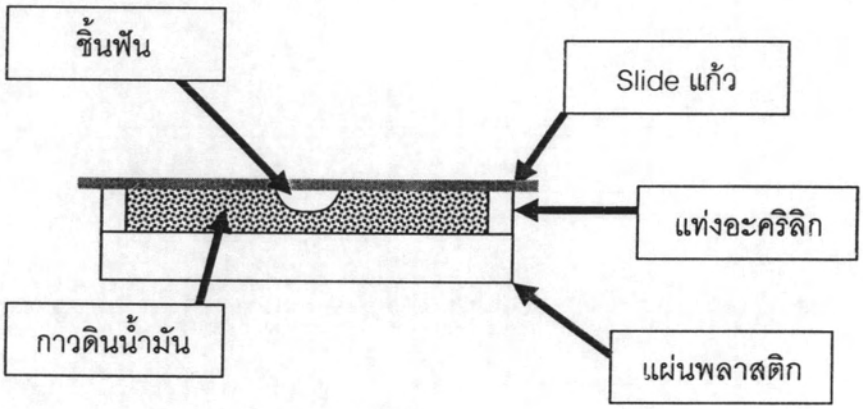
3.14 ตัดฟันตัวอย่างแต่ละซี่ออกเป็น 4 ส่วนเพื่อแยกกลุ่มทดลองในแต่ละด้านออกจากกัน

3.15 ตัดชิ้นฟันผ่านกึ่งกลางโพรงฟันที่บูรณะในแนวขนานแกนฟันด้วยเครื่องกรอช้า (micro-motor) โดยใช้หัวกรอกากเพชรรูปวงล้อหนา 0.15 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 19 มิลลิเมตร ความละเอียด 100 ไมครอน (273D, Intensiv)

3.16 ขัดชิ้นฟันให้ได้ระนาบด้วยกระดาษทรายเบอร์ 400, 600, 800,1000,1200 และ 2000

4. **การสังเกตและการวัด**

4.1 สร้างแท่นยึดชิ้นงานซึ่งทำจากแผ่นพลาสติกกับแท่งอะคริลิกจากนั้นขัดแต่งแท่งอะคริลิกทั้ง 2 ข้างให้มีความสูงจากพื้นระนาบเท่ากัน จากนั้นใช้กาวดินน้ำมันใส่ไว้ระหว่างแท่นอะคริลิกเพื่อยึดชิ้นงาน ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 แท่นยึดชิ้นงาน

4.2 ยึดแผ่นสไลด์ซึ่งมีเส้นอ้างอิงบนแท่นยึดแล้วถ่ายภาพที่กำลังขยาย 50, 100, 200 เพื่อใช้เป็นเส้นอ้างอิงในการวัดระยะต่างๆในโปรแกรม Image-Pro Plus

4.3 ยึดชิ้นฟันบนแท่นยึดโดยวางชิ้นฟันบนกาวดินน้ำมัน จากนั้นใช้แผ่นสไลด์แก้วกดชิ้นฟันให้จมลงในกาวดินน้ำมันจนกระทั่งแผ่นสไลด์แก้วชนกับแท่นอะคริลิกทั้ง 2 ข้าง เพื่อให้ชิ้นฟันอยู่ในระดับเดียวกับความสูงของแท่นอะคริลิกในทุกครั้งที่ทำการวัด และฟันทุกชิ้นอยู่ในระดับเดียวกันขณะถ่ายภาพ

4.4 ถ่ายภาพการซึมผ่านของสีย้อมบริเวณรอยต่อฟันกับวัสดุบูรณะทั้งที่ขอบเคลือบฟันและขอบเคลือบรากฟันผ่านกล้องจุลทรรศน์ (Nikon Eclipse Model E 400 Pol, Nikon, Japan) ร่วมกับกล้องถ่ายภาพดิจิตอลที่กำลังขยาย 50, 100 และ 200 เท่า

4.5 ก่อนทำการวัดได้ทำการทดสอบความถูกต้องในการวัดของผู้วิจัย (accuracy) และทดสอบความแม่นยำในการวัดของผู้วิจัย (reliability) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

4.6 ก่อนทำการวัดชิ้นงานทั้งหมด ให้ผู้ช่วยการวิจัยสลับเปลี่ยนหมายเลขประจำชิ้นฟันโดยเรียงลำดับชิ้นฟันจากแต่ละกลุ่มสลับกัน เช่น เลข 1 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 9, เลข 2ชิ้นฟันจากกลุ่ม 10, เลข 3 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 11, เลข 4 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 12, เลข 5 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 9, เลข 6 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 10, เลข 7 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 11, เลข 8 ชิ้นฟันจากกลุ่ม 12 เป็นต้น เพื่อให้ผู้วัดไม่ทราบว่าชิ้นฟันที่วัดอยู่ในกลุ่มทดลองใด เพื่อลดอคติที่อาจเกิดขึ้น (blindness)

4.7 นำภาพถ่ายดิจิตอลมาวัดผลการทดสอบด้วยโปรแกรม Image-Pro Plus โดยใช้เกณฑ์การวัดซึ่งแสดงในภาคผนวก ก

5. **การเก็บรวบรวมข้อมูล** บันทึกผลการวัดดังนี้

5.1 ขอบเคลือบฟัน บันทึกระยะการซึมผ่านของสีย้อมหน่วยเป็นมิลลิเมตรที่ตำแหน่งต่างๆ ได้แก่

5.1.1 ระยะการรั่วซึมของสีย้อมที่เข้ามาระหว่างรอยต่อของฟันกับสารยึดเรซิน

5.1.2 ระยะการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบฟัน

5.1.3 ระยะการรั่วซึมของสีย้อมที่เข้ามาระหว่างรอยต่อของสารยึดเรซินกับวัสดุบูรณะ

5.2 ขอบเคลือบรากฟัน บันทึกระยะการซึมผ่านของสีย้อมหน่วยเป็นมิลลิเมตรที่ตำแหน่งต่างๆได้แก่

5.2.1 ระยะการรั่วซึมของสีย้อมที่เข้ามาระหว่างรอยต่อของฟันกับสารยึดเรซิน

5.2.2 ระยะการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟัน

5.2.3 ระยะการแทรกซึมของสีย้อมที่ประชิดกับรอยต่อของฟันกับสารยึดเรซิน (ในกรณีที่ไม่เห็นการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบรากฟัน)

5.2.4 ระยะการรั่วซึมของสีย้อมระหว่างรอยต่อของสารยึดเรซินกับวัสดุบูรณะ

5.2.5 บันทึกว่าพบลักษณะการปิดกั้นการรั่วซึมของสีย้อมเข้าไปในท่อเนื้อฟันหรือไม่

5.3 หากการรั่วซึมของชิ้นฟันที่ตัดออกมาด้านซ้ายและขวาไม่ตรงกัน ให้เลือกค่าที่มากกว่าเป็นตัวแทนการรั่วซึมของฟันชิ้นนั้น

5.4 หากชิ้นฟันข้างซ้าย หรือข้างขวามีลักษณะที่ไม่สามารถวัดระยะได้ ให้ใช้ค่าของอีกข้างหนึ่งที่วัดได้เป็นตัวแทนของฟันชิ้นนั้น หากมีลักษณะที่ไม่สามารถวัดระยะได้ทั้ง 2 ข้าง ให้ทำตัวอย่างฟันชิ้นนั้นใหม่

5.5 ระยะการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟันที่เป็นตัวแทนของฟันชิ้นนั้นจะนำค่ามาจากข้างที่มีค่าการรั่วซึมของเคลือบรากฟันมากกว่า (ข้างที่ใช้ค่าการรั่วซึมของเคลือบรากฟันเป็นตัวแทนของฟันชิ้นนั้น)

6. **การวิเคราะห์ข้อมูล**

การวิจัยครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical package for the social sciences plus) ในการประมวลผลข้อมูลที่ใช้สถิติวิเคราะห์ ดังนี้

6.1 สถิติเชิงพรรณนาแสดงข้อมูลค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบฟัน (LE) และเคลือบรากฟัน (LC) ค่าการแทรก

ซึมของสีย้อมในเคลือบฟัน (DPE) และค่าการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟัน (DPC) ในแต่ละกลุ่ม

6.2 วิเคราะห์เปรียบเทียบระยะการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินของกลุ่มที่ไม่ผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุกับกลุ่มที่ผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุด้วยสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (2-Way Analysis of Varience) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อดูอิทธิพลของปัจจัยเรื่องการผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุ และปัจจัยเรื่องเวลาที่ใช้ปรับสภาพฟัน

6.3 วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบฟัน (DPE) กับระยะการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟัน (DPC) ซึ่งบูรณะด้วยสารยึดเรซินในแต่ละกลุ่มทั้งกลุ่มที่ไม่ผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุและกลุ่มที่ผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุด้วยสถิติแพร์ทีเทสต์ (Pair T-test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

6.4 วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบฟัน (LE), ค่าเฉลี่ยการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบรากฟัน (LC), ค่าเฉลี่ยการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบฟัน (DPE), ค่าเฉลี่ยการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟัน (DPC) โดยตรวจสอบการกระจายของข้อมูลก่อนว่ามีการแจกแจงแบบปกติหรือไม่ด้วยสถิติโคลโมโกรอฟสเมอนอฟ (Kolmogorov-Simirnov test) และตรวจสอบความแปรปรวนของประชากรแต่ละกลุ่มว่าเท่ากันรึไม่ด้วยสถิติทดสอบความเหมือนของค่าความแปรปรวน (Test of homogeneity of variance) ด้วยวิธีของ Levene ถ้าประชากรมีการแจกแจงแบบปกติและประชากรทุกกลุ่มมีความแปรปรวนเท่ากันจึงใช้สถิติแบบพาราเมตริกซ์ชนิดวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance) ในการวิเคราะห์เพื่อดูผลของปัจจัย ทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน (Multiple comparisons) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ถ้าประชากรมีการแจกแจงไม่ปกติ ทำการทดสอบด้วยสถิตินอนพาราเมตริกชนิดครูสคอล-วอลลิส (Kruskal-Wallis) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แล้วทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน

6.5 วิเคราะห์เปรียบเทียบระยะการรั่วซึมบริเวณรอยต่อฟันกับสารยึดเรซินทางด้านเคลือบรากฟัน (LC) กับระยะการแทรกซึมของสีย้อมในเคลือบรากฟันและเนื้อฟัน (DPC) ซึ่งบูรณะด้วยสารยึดเรซินในแต่ละกลุ่มด้วยสถิติแพร์ทีเทสต์ (Pair T-test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

6.6 สถิติเชิงพรรณนาแสดงจำนวนและค่าเฉลี่ยที่พบการรั่วซึมของสีย้อมระหว่างรอยต่อของสารยึดเรซินกับเรซินคอมโพสิตในด้านเคลือบฟันและเคลือบรากฟัน

7. **การศึกษาลักษณะชั้นรอยต่อระหว่างสารยึดเรซินกับฟัน**

7.1 ฟันที่นำมาใช้ทดสอบในตอนที่ 2 กลุ่มละ 1 ด้าน ซึ่งเตรียมชิ้นตัวอย่างเช่นเดียวกับตอนที่ 1 ทุกประการ (วิธีการดังข้อ 3) โดยไม่นำฟันไปแช่ในสารละลายเบสิกฟุชชิน แต่นำมาตัดชิ้นฟันผ่านกึ่งกลางโพรงฟันที่บูรณะในแนวขนานแกนฟันด้วยเครื่องกรอช้า (micro-motor) โดยใช้หัวกรอกากเพชรรูปวงล้อหนา 0.15 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 19 มิลลิเมตร ความละเอียด 100 ไมครอน (273D, Intensiv) จะได้ชิ้นฟันกลุ่มละ 2 ชิ้นคือ ชิ้นซ้ายและขวา

7.2 นำชิ้นฟันทั้งหมดมาขัดเรียบด้วยกระดาษซิลิกอนคาร์ไบด์ความละเอียด400, 600, 800, 1000, 1200 และ 2000 แล้วขัดด้วยผงขัดอะลูมินาขนาด 0.05 ไมครอน

7.3 นำฟันไปทำความสะอาดด้วยเครื่องทำความสะอาดด้วยคลื่นไฟฟ้านาน 5 นาที

7.4 นำฟันข้างขวาของแต่ละกลุ่มมาแช่สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมล นาน 30 วินาที แล้วตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 1 นาน 60 นาที

7.5 ศึกษาลักษณะชั้นไฮบริดของชิ้นฟันทั้ง 2 ชิ้นด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่กำลังขยาย 2,000 เท่า

แผนภูมิสรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัย