

# 7

## การเพาะเชื้อจากคลองรากฟัน

### Root Canal Culture

แสงอุษา เขมาลีลากุล

กิตติพิชญ์ กลั่นเลี้ยง

**วัตถุประสงค์:** เพื่อให้นักศึกษาสามารถทำการเพาะเชื้อได้อย่างถูกต้อง

#### วัสดุและอุปกรณ์

1. Petri dish ซึ่งบรรจุแท่งกระดาษซับปรอทจากเชื้อ (sterile paper point)
2. หลอดเพาะเชื้อ
3. Cotton pliers
4. ตะเกียงอัลกอฮอล์

#### หลักการและเหตุผล

การติดเชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดพยาธิสภาพในคลองรากฟัน และอาจลุกลามต่อไปยังเนื้อเยื่อปลายรากฟันได้ การเพาะเชื้อจากคลองรากฟันนอกจากจะมีประโยชน์ในการศึกษาถึงชนิดของเชื้อที่เกี่ยวข้องแล้ว ยังสามารถใช้ตรวจสอบว่าคลองรากฟันที่ได้รับการขยายและใส่ยาเพื่อฆ่าเชื้อแล้ว มีความสะอาดพอที่จะอุดคลองรากฟันได้หรือไม่ ทั้งนี้เนื่องจากการอุดคลองรากฟันในขณะที่ยังมีเชื้ออยู่มากในคลองรากฟันนั้น จะทำให้ผลสำเร็จของการรักษาลดลง

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเชื้อ ได้แก่

1. หลังการล้าง และใส่ยาในคลองรากฟันแล้วอย่างน้อย 2-3 วัน
2. ฟันไม่มีอาการปวด เคาะไม่เจ็บ
3. วัสดุอุดชั่วคราวอยู่ในสภาพดี
4. คลองรากฟันแห้ง หรือมี exudate เล็กน้อย ไม่มีเลือดหรือหนอง

ผลของการเพาะเชื้อจะถูกตั้งหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่

#### 1. เทคนิคในการเพาะเชื้อ

อุปกรณ์ทุกชนิดที่จะใช้ในการเพาะเชื้อจะต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) เสียก่อน และทุกขั้นตอนที่ทำการเพาะเชื้อนั้นต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจากแหล่งอื่น ทั้งนี้เพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้นั้นมาจากในคลองรากฟันจริง ควรตรวจสอบความปราศจากเชื้อ (sterile) ของอุปกรณ์ที่ใช้เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของการเพาะเชื้อเสมอ

#### 2. ระยะเวลาที่เลือกทำการเพาะเชื้อ

ถ้าเป็นการเพาะเชื้อเพื่อตรวจสอบความสะอาดของคลองรากฟัน ควรกระทำภายหลังจากที่ได้ใส่ยาชนิดที่เป็นไอระเหยไปแล้วอย่างน้อย 2-3 วัน เพื่อให้ยาหมดฤทธิ์เสียก่อน มิฉะนั้นอาจจะได้ผลไม่ถูกต้อง

### 3. สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ

เชื้อแบคทีเรียที่พบได้ในคลองรากฟันมีหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นเชื้อชนิดที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) และเชื้อชนิดที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic bacteria) การเลือกชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจึงมีผลต่อความถูกต้องของการเพาะเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในคลินิกเพื่อตรวจสอบความสะอาดของคลองรากฟัน คือ Thioglycollate broth ที่มี oxygen indicator ซึ่งอยู่ในรูปของเหลวสีเหลืองใส บรรจุอยู่ในหลอดแก้วที่มีฝาเกลียวปิด และผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ จะมีสีเหลืองอ่อน อาหารชนิดนี้จะมี oxygen indicator ผสมอยู่ ถ้าทิ้งไว้นานๆ หากมีออกซิเจนซึมผ่านลงไปในอาหาร จะทำให้อาหารบริเวณที่มีออกซิเจนอยู่เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู โดยทั่วไป เชื้อในคลองรากฟันส่วนใหญ่จะเจริญได้ใน thioglycollate broth โดยเชื้อกลุ่มที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนก็จะเจริญอยู่เฉพาะส่วนล่างของหลอด ส่วนเชื้อชนิดที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนก็จะเจริญได้ทั่วไปในหลอด การเลือกหลอดเพาะเชื้อจึงควรเลือกหลอดที่มีสีชมพูอยู่เฉพาะด้านบนของอาหาร ไม่เกิน 1/4 ของปริมาณอาหารทั้งหมด ทั้งนี้เพื่อให้เชื้อชนิดที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนสามารถเติบโตได้

## ขั้นตอนปฏิบัติการ

### การเตรียมก่อนการเพาะเชื้อ

1. เตรียมหลอดเพาะเชื้อ จำนวน 2 หลอด ต่อฟัน 1 ซี่
2. นำมาติดป้ายบอกรายละเอียดที่จำเป็น ได้แก่ ชื่อผู้ป่วย ชื่อนทพ. วันที่ทำการเพาะเชื้อ ซี่ฟันที่ทำการเพาะเชื้อ (รูป 7-1)

### ขั้นตอนการเพาะเชื้อ

1. ใส่ rubber dam แล้วใช้สำลีสับทิงเจอร์ไอโอดีนหมาดๆ เช็ดบริเวณฟันและ rubber dam ที่อยู่โดยรอบให้สะอาด เช็ดซ้ำด้วยสำลีสับอัลกอฮอล์ 70% อีกครั้งหนึ่ง (ขั้นตอนในคลินิก)
2. ตรวจสอบว่าวัสดุอุดชั่วคราวยังอยู่ในสภาพดี จากนั้นใช้ round steel bur ร่วมกับเครื่องกรอความเร็วต่ำ หรือ spoon excavator ตักวัสดุอุดชั่วคราวออกให้หมดจนเหลือแต่สำลี ตรวจสอบผนังทางเปิดเข้าคลองรากฟันให้แน่ใจว่าไม่มีเศษวัสดุอุดชั่วคราวตกค้างอยู่ เพราะอาจตกลงไปในคลองรากฟันขณะเพาะเชื้อ
3. เช็ดทำความสะอาดฟัน และ rubber dam โดยรอบอีกครั้งหนึ่ง เพื่อกำจัดเศษวัสดุอุดชั่วคราวที่ตกค้างอยู่ออกให้หมด ในขั้นตอนนี้ระวังอย่าให้สำลีสัมผัสน้ำยามากเกินไป เพราะอาจไหลเข้าสู่คลองรากฟัน ทำให้ผลการเพาะเชื้อผิดพลาดได้ จากนั้นรอให้ rubber dam แห้งจึงทำขั้นตอนต่อไป
4. ใช้ sterile barbed broach ที่มีขนาดพอเหมาะ ดึงสำลีสักที่อยู่ในโพรงในตัวฟันออก

CONTROL .....
ชื่อผู้ปวย.....
ชื่อณฑพ.....
วันที่.....

ชื่อพื้นที่.....
ชื่อผู้ปวย.....
ชื่อณฑพ.....
วันที่.....

รูป 7-1 รายละเอียดที่ต้องติดข้างหลอดเพาะเชื้อแต่ละหลอด

5. จับ Petri dish ด้วยมือซ้าย นำมาหมุนผ่านเปลวไฟโดยรอบ จากนั้นถือ dish ไว้ในอุ้งมือแล้วใช้นิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้ดันฝาให้เปิดออก ใช้มือขวาจับ cotton pliers ลนไฟ 2-3 วินาที คีบแท่งกระดาษชั้บขนาดเหมาะสมกับขนาดคลองรากฟัน โดยวัดความยาวเท่ากับความยาวที่ใช้ขยาย (working length) (รูป 7-2) นำไปชั้บในคลองรากฟันทุกราก ทั้งไว้ประมาณ 5 วินาที สังเกตดูลักษณะของ exudate ที่ติดมากับแท่งกระดาษชั้บ

- ถ้าชุ่มด้วยหนองลักษณะเป็นมันวาว เหนียวยืด หรือมีเลือดที่ปลาย ยังไม่สมควรทำการเพาะเชื้อ
- ถ้าเป็ยกขึ้นด้วยน้ำใส เมื่อแตะกับแผ่นยางกันน้ำลายแล้วระเหยง่าย สามารถทำการเพาะเชื้อได้

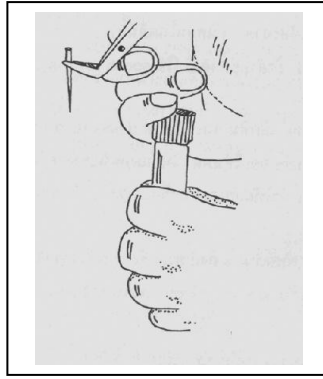


รูป 7-2 การเปิด dish เพื่อคีบแท่งกระดาษชั้บ

6. คีบแท่งกระดาษชั้บแท่งใหม่ ใส่ในคลองรากฟันทิ้งไว้อย่างน้อย 1 นาที แต่ถ้าคลองรากฟันแห้งมากให้ทิ้งไว้นาน 2-3 นาที เพื่อเพิ่มการดูดซับ exudate และเชื้อจุลินทรีย์จากบริเวณปลายรากและผนังคลองรากฟัน ในกรณีที่พื้นมีหลายคลองรากฟัน ให้ใส่แท่งกระดาษชั้บทุกคลองรากฟัน

7. ใช้มือซ้ายถือหลอดเพาะเชื้อไว้ ส่วนมือขวาหยิบ cotton pliers ลนไฟ 2-3 วินาที แล้วดึงกระดาษชั้บออกจากคลองรากฟัน ระวังอย่าให้สัมผัสกับสิ่งใดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน (contamination)

8. ใช้นิ้วก้อยมือขวาจับฝาหลอดเพาะเชื้อไว้ในฝ่ามือ มือซ้ายหมุนหลอดทวนเข็มนาฬิกา เพื่อเปิดฝาทอกจากนั้นลนปากหลอดด้วยเปลวไฟ โดยหมุนหลอดขณะลนไฟด้วย (รูป 7-3, 7-4)

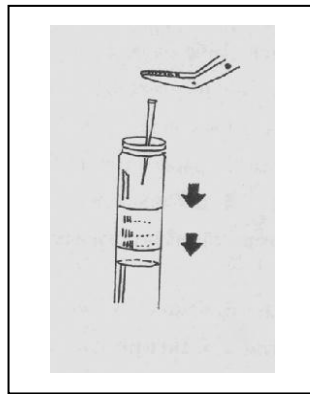


รูป 7-3 การเปิดหลอดเพาะเชื้อ

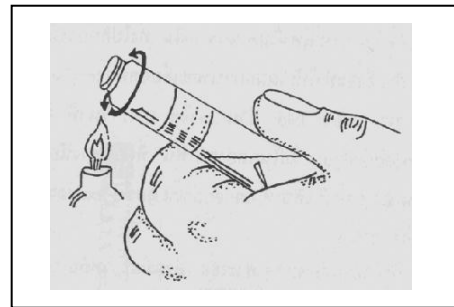


รูป 7-4 การลนไฟปากหลอดเพื่อฆ่าเชื้อ

9. ใส่กระดาษซับที่นำมาจากคลองรากฟันลงในหลอดเพาะเชื้อ (รูป 7-5) ต้องจับหลอดตั้งตรงเพื่อให้กระดาษซับตกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่ติดอยู่ข้างหลอด (รูป 7-6) ลนไฟที่ปากหลอดอีกครั้ง แล้วจึงปิดฝาด้วยนิ้วก้อยข้างขวาตามเดิม



รูป 7-5 การใส่แท่งกระดาษซับลงในหลอดเพาะเชื้อ



รูป 7-6 การลนไฟปากหลอดเพื่อฆ่าเชื้อก่อนปิดฝา

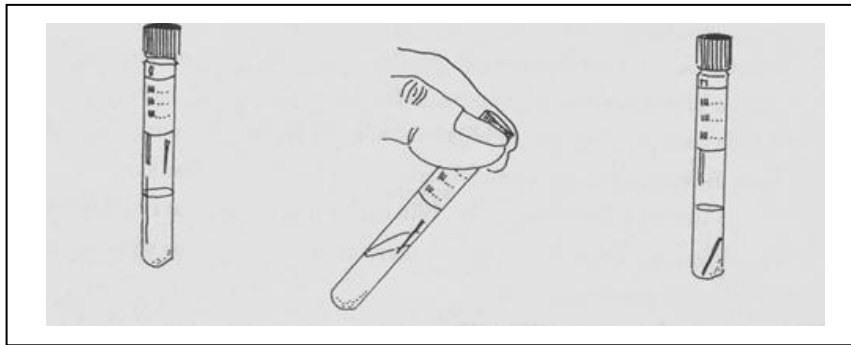
กรณีที่มีหลายคลองรากฟัน การดึงกระดาษซับออกจากคลองรากฟัน อาจดึงทีละแท่ง หรือดึงออกพร้อมกันทั้งหมดก็ได้ แต่จะนำไปใส่ในหลอดเพาะเชื้อหลอดเดียวกัน

10. ถ้ากระดาษซับติดด้านข้างหลอด ให้ปิดฝาลอดก่อนแล้วจึงจับฝาลอด เอียงหลอดจนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อไหลมาสัมผัสกับกระดาษซับ (รูป 7-7) แล้วเขย่าเบาๆ ก็จะทำให้กระดาษซับลงไปอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (ในขั้นตอนนี้ไม่ควรเขย่าแรงเพราะจะทำให้ออกซิเจนซึมผ่านลงไป ในอาหารมากยิ่งขึ้น) ไม่ควรเอียงหลอดจนอาหารเลี้ยงเชื้อสัมผัสกับฝาลอดเพราะอาจเกิดการปนเปื้อนได้

11. เพื่อให้แน่ใจว่าผลของการเพาะเชื้อถูกต้อง ควรทำหลอดควบคุม (control tube) ด้วยทุกครั้ง เพื่อเป็นการตรวจสอบ sterilization technique ของผู้ทำการเพาะเชื้อ และตรวจสอบว่ากระดาษซับที่ใช้ในการเพาะเชื้อนั้นปราศจากเชื้อจริงหรือไม่ วิธีทำจะเหมือนการเพาะเชื้อจากในคลองรากฟันทุกประการ แต่ใช้ cotton pliers ลนไฟ หยิบกระดาษซับจากใน petri dish ใส่ลงในหลอดเพาะเชื้อเลย โดยต้องติดป้ายที่

หลอดว่าเป็นหลอดควบคุม นิยมทำในขณะที่ตั้งแท่งกระดาษซับไว้ในคลองรากฟัน เพื่อเป็นการประหยัดเวลา

12. นำหลอดที่ต้องการเพาะเชื้อ และหลอดควบคุมไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศา อย่างน้อย 48 ชั่วโมง แล้วจึงอ่านผล ถ้าพบมีเชื้อขึ้นในหลอด ซึ่งอาจเห็นเป็นแผ่นลอยอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นทั้งหมด แสดงว่าผลการเพาะเชื้อเป็นบวก (positive culture) แต่ถ้าไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ ทั้งในหลอดควบคุมและหลอดที่ต้องการเพาะเชื้อแสดงว่าผลการเพาะเชื้อเป็นลบ (negative culture) แต่ถ้าอ่านได้ผลบวกในหลอดควบคุมให้ทำการเพาะเชื้อใหม่ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ sterile technique ไม่ดีหรือแท่งกระดาษซับมีเชื้อปนเปื้อน



รูป 7-7 การเลี้ยงหลอดเพาะเชื้อ กรณีแท่งกระดาษซับติดข้างหลอด

### หนังสืออ้างอิง

Grossman LI. Endodontic practice. 9<sup>th</sup>ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1978.