



Effect of K-file cleaning: SEM and EDS studies

Jaruwan Phoprom¹, Suwanna Korsuwannawong², Chayada Teanchai²,
Pimolmas Na Songkhla³, Weena Salee⁴, La-ongthong Vajrabhaya⁵

¹ Infection Control Unit

² Research Office

³ Special Clinic

⁴ Dental Assistant School

⁵ Faculty of dentistry, Mahidol University and Faculty of dental medicine, Rangsit University

Abstract

Objective: The aim of this study was to compare the optimal cleaning time of cleaning solution on the endodontic file after clinical use.

Method: Sixty K-files size 15, 21mm were sterilized before the experiment. The files were sterilized and divided into one control group and three experimental groups, 15 files/group. The control group was not used on the patient while the experimental groups were clinically used (30 times/canal/file). The experimental groups were initially placed in 1% of Rapid Multi-Enzyme Cleaners for 10 min. Then they were divided into three groups for ultrasonic vibration of 15, 20, and 30 min. respectively. All files were studied under SEM and EDS after cleaning. The data were analysed by chi-square statistics and Kruskal-Wallis H test. Microbial study after autoclave sterilization was also evaluated by using the other 25 files. The procedure of testing and dividing of groups were the same as the testing mentioned above.

Results: The results of SEM revealed 98.075, 99.885, and 100 percent of the files be free of biological debris after ultrasonic cleaning respectively on the time mentioned above. No microbial contamination was disclosed on the files after the sterile procedures mentioned above.

Conclusion: Endodontics files after clinical use were free of biological debris after placing them in ultrasonic cleaning solution for 30 min.

Keywords: Biological debris, Energy-dispersive X-ray spectroscopy, K-files, Rapid Multi-Enzyme Cleaners, Scanning Electron Microscopy

How to cite: Phoprom J, Korsuwannawong S, Teanchai C, Na Songkhla P, Salee W, Vajrabhaya L. Effect of K-file cleaning: SEM and EDS studies. M Dent J 2016; 36: 75-87.

Correspondence author:

Suwanna Korsuwannawong
Research office, Faculty of dentistry
Mahidol University
Tel: 02-200-7620

Received: 15 February 2016

Accepted: 12 March 2016



ผลของการทำความสะอาดเคไฟล์: ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและการวิเคราะห์ธาตุ

จารุวรรณ โปธิ์พรม¹ สุวรรณ ก่อสุวรรณวงศ์² ชญาดา เทียนไชย² พิมลมาศ ณ สงขลา³ วัฒนา สาลี⁴ ละอองทอง วัชรภักย์⁵

¹ หน่วยควบคุมการติดเชื้อ

² สำนักงานการวิจัย

³ คลินิกทันตกรรมพิเศษ (ระบบบริการ)

⁴ หน่วยโรงเรียนผู้ช่วยทันตแพทย์

⁵ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้น้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์รักษาคลองรากฟัน ศึกษาโดยใช้ตะไบไฟล์ขนาด 15 ความยาว 21 มม. ภายหลังทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว แบ่งเป็นกลุ่มๆ ละ 15 อัน ได้แก่ กลุ่มควบคุม คือตะไบไฟล์ที่ไม่ใช้งานกับผู้ป่วย กลุ่มทดสอบคือ กลุ่มที่ใช้งานในคลินิก แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือตะไบไฟล์หลังใช้งานกับผู้ป่วยแล้วแช่น้ำยาทำความสะอาด (Rapid Multi-Enzyme Cleaners) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 10 นาทีในเบื้องต้น จากนั้นนำตะไบไฟล์มาทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที แล้วจึงนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและการวิเคราะห์ธาตุ ข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ด้วยสถิติโคสแคว และสถิติครัสคาล วัลลิส เอส พร้อมทั้งประเมินการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ภายหลังการแช่น้ำยาตามเวลาดังกล่าวข้างต้น โดยใช้ตะไบไฟล์จำนวน 25 อัน แบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ (5 อัน/กลุ่ม) พร้อมทั้งทดสอบด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น ผลการศึกษาพบว่า ตะไบไฟล์ภายหลังการใช้งานในคลินิกแล้ว ปราศจากเศษเนื้อเยื่อร้อยละ 98.075, 99.885 และ 100 ตามเวลาการทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างความถี่สูงดังกล่าวข้างต้นตามลำดับ ส่วนการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ภายหลังผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนิ่งฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สรุป ประสิทธิภาพของน้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์สามารถกำจัดสิ่งตกค้างได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ระยะเวลา 30 นาที

คำสำคัญ: เชื้อจุลินทรีย์, การวิเคราะห์ธาตุด้วยเอ็ดไอเอส, ตะไบไฟล์ชนิดเค, น้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

วิธีอ้างอิงบทความนี้: จารุวรรณ โปธิ์พรม, สุวรรณ ก่อสุวรรณวงศ์, ชญาดา เทียนไชย, พิมลมาศ ณ สงขลา, วัฒนา สาลี, ละอองทอง วัชรภักย์. ผลของการทำความสะอาดเคไฟล์: ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและการวิเคราะห์ธาตุ. ทันต มหิดล 2559; 36: 75-87.

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

สุวรรณ ก่อสุวรรณวงศ์

สำนักงานการวิจัย

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์: 02-200-7620

วันรับเรื่อง: 15 กุมภาพันธ์ 2559

วันยอมรับการตีพิมพ์: 12 มีนาคม 2559

บทนำ

คลินิกทันตกรรมในคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ใช้ผลิตภัณฑ์น้ำยาทำความสะอาดอะควาดีส/อุปกรณ์ทางทันตกรรม เช่น ในงานวิทยาเอ็นโดดอนต์ มีการทำความสะอาดตะไบไฟล์ภายหลังใช้ในงานรักษาคลองรากฟัน ตะไบไฟล์ทำจากโลหะไร้สนิม (Stainless steel file) หรือ ทำจากสารนิเกิล-ไทเทเนียม (NiTi) เป็นต้น โดยนำมาหมუნเป็นเกลียว และมีหน้าตัดขวางแบบต่างๆ เช่น หน้าตัดกลม หน้าตัดสี่เหลี่ยม เป็นต้น วัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ คือ ขยายผนังคลองรากฟันพร้อมทั้งกำจัดเนื้อเยื่อหรือเนื้อฟันที่ติดเชื่อภายในคลองรากออก ร่วมกับน้ำยาล้างคลองราก ดังนั้นตะไบไฟล์ ภายหลังใช้งานจะมีเศษเนื้อเยื่อและเศษเนื้อฟันติดตามเกลียวของเครื่องมือ ปัจจุบันนิยมใช้ตะไบไฟล์ทั้งชนิดมือหมุน (Hand file) ร่วมกับชนิดหมุนด้วยมอเตอร์ (Rotary file) โดยเริ่มต้นจะใช้ตะไบไฟล์ชนิดมือหมุนเข้าไปสำรวจคลองรากและขยายนำทางก่อนจะใช้ชนิดหมุนด้วยมอเตอร์ ตะไบไฟล์ชนิดมือหมุนที่ใช้ 2-3 อันแรกมักเป็นตะไบไฟล์ชนิดเค (K-file) ภายหลังจากการใช้งานผู้ช่วยทันตแพทย์จะนำตะไบไฟล์ส่งห้องล้างโดยแช่น้ำยาทำความสะอาด (Rapid Multi-Enzyme Cleaners, 3M, New Taipei City, TAIWAN) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าล้างในเครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic Cleaner, L&R Sweepzone, L&R Manufacturing company, USA) โดยมีการสั่น 43 ± 2 KHz. ที่มีน้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาทำความสะอาดด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 10 วินาที ทำให้แห้งโดยวิธีเป่าลมแล้วนำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยใส่ของเข้าอบในเครื่องฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ (autoclave) ก่อนส่งคลินิกใช้งานในครั้งต่อไป จากงานวิจัย พบว่าเมื่อนำตะไบไฟล์ที่ได้รับจากการปฏิบัติงานทางทันตกรรมมาทำความสะอาดโดยผู้ปฏิบัติงานทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างความถี่สูงและใช้กล่องจุลทรรศน์ในคลินิกของโรงพยาบาล

ตรวจสอบตะไบไฟล์ พบว่าตะไบไฟล์ยังคงมีเนื้อเยื่อติดอยู่ร้อยละ 14^{1, 2} ปัจจุบันการศึกษาประสิทธิภาพของการกำจัดจุลินทรีย์จากตะไบไฟล์รักษาคลองรากฟัน ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อระบบไอน้ำพบว่าไม่มีผลต่ออนุภาคเล็กๆที่พบบนตะไบไฟล์^{3, 4} จากการศึกษาของ Venkatasubramanian และคณะ⁵ โดยการเปรียบเทียบตะไบไฟล์ทางทันตกรรมที่ทำให้ปราศจากเชื้อจำนวน 4 วิธี พบว่าการทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่องฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ และการทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีใช้เลเซอร์คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ laser sterilization) สามารถฆ่าเชื้อได้สมบูรณ์ร้อยละ 100 ส่วนวิธีทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ลูกบิดแก้ว (glass-bead sterilization) ให้ผลปราศจากเชื้อร้อยละ 90 และวิธีใช้สารเคมีร่วมกับน้ำยากลูดาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ให้ผลปราศจากเชื้อร้อยละ 80

จากการปฏิบัติงานในคลินิกของทันตแพทย์ เมื่อมีการนำตะไบไฟล์ที่ใช้งานแล้วส่งห้องล้างเพื่อทำความสะอาด บางครั้งตะไบไฟล์ มีลักษณะผิวตะไบไฟล์แห้งมาก ซึ่งยากต่อการทำความสะอาดตะไบไฟล์ ปัจจุบันห้องล้างเครื่องมือของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้นำน้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์มาใช้ ซึ่งมีส่วนประกอบของโซเดียมเตตระโบเรต (Sodium Tetraborate) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ต่อสารสารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสิ่งคัดหลั่ง (Secretion) เช่น โพรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และมิวโคโพลีแซ็กคาไรด์ (Mucopolysaccharides) มีความเหมาะสมในการใช้เครื่องมือทางการแพทย์ จากประสิทธิภาพดังกล่าว เมื่อผู้ปฏิบัติงานกำหนดเวลาในการทำความสะอาดไม่ถูกต้อง หรือปฏิบัติงานไม่ถูกต้องตามขั้นตอนย่อมส่งผลให้ตะไบไฟล์ที่นำมาใช้งานกับผู้ป่วยครั้งต่อไป มีสิ่งตกค้างหรือสิ่งแปลกปลอม เช่น คราบเนื้อเยื่อที่ติดกับตะไบไฟล์ ซึ่งยากต่อการกำจัด ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยนี้ เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเศษสิ่งสกปรก สิ่งตกค้างเศษเนื้อเยื่อออกจากตะไบไฟล์ให้ได้

มากที่สุด เพื่อเป็นแนวทางปฏิบัติงานในการทำความสะอาด สะอาดตะไคร้ไฟให้ได้ประสิทธิภาพ โดยประเมินวิธีการทำความสะอาดตะไคร้ไฟด้วยน้ำยาทำความสะอาด สะอาดตะไคร้ไฟที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ด้วยเครื่อง ล้างความถี่สูง เป็นเวลา 15, 20 และ 30 นาที พร้อมทั้งทำให้ปราศจากเชื้อก่อนนำไปใช้งานทางคลินิก

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การประเมินตะไคร้ไฟภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

นำตะไคร้ไฟชนิดเค (K-file, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) ขนาด 15 ความยาว 21 มม. จำนวน 60 อันมาผ่านการทำความสะอาดตามขั้นตอนการล้างของห้องล้าง เครื่องมือของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ระบบไอน้ำ (Autoclave, Getting GE2612ER-2/P 2012 Geting, Sweden) แบ่งกลุ่มการทดลอง 4 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมไม่ใช้งานกับผู้ป่วย กลุ่มทดลอง ใช้งานกับผู้ป่วยในการเก็บสิ่งสกปรกจากคลองรากฟัน โดยใช้ขยายในคลองรากฟัน จำนวน 30 ครั้ง/ตะไคร้ไฟ จากนั้นนำตะไคร้ไฟแช่ในน้ำยาทำความสะอาดที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำตะไคร้ไฟทั้ง 3 กลุ่มมาทำความสะอาดด้วยเครื่อง ล้างความถี่สูง ที่มีน้ำยาทำความสะอาดความเข้มข้น ร้อยละ 1 เป็นเวลา 15, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ และทำความสะอาดด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 10 วินาที ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ด้วยระบบไอน้ำ จากนั้นศึกษาลักษณะพื้นผิวตะไคร้ไฟ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope; JSM-6610LV, Tokyo, Japan) ตามรูปที่ 1

เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่กำลังขยาย 100 เท่า พื้นผิวของตะไคร้ไฟเมื่อวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

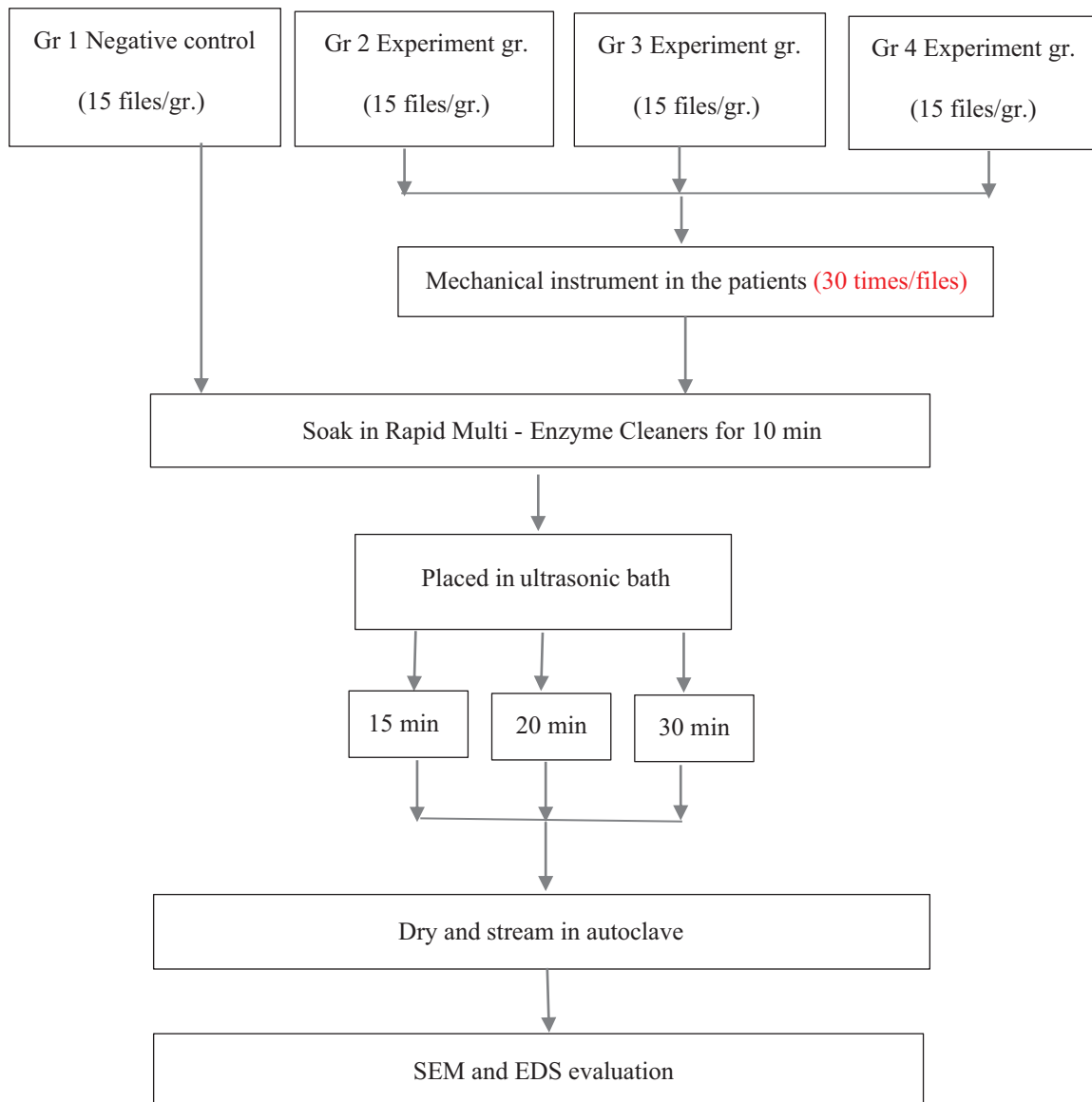
อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ศึกษา 2 ด้าน คือ หน้าตัด ด้านบนและหน้าตัดด้านล่าง และเป็นตำแหน่งเดียวกัน ในทุกอัน คือ ตำแหน่งที่ 1 คือ วัดระยะจากปลาย ตะไคร้ไฟของตำแหน่งที่ 1 ด้วยระยะ 0.2 มม. ตำแหน่งที่ 2 จากปลายตะไคร้ไฟด้วยระยะ 0.5 มม. และตำแหน่งที่ 3 จากปลายตะไคร้ไฟ ด้วยระยะ 0.9 มม. โดยศึกษาหน้าตัดด้านบนและหน้าตัดด้านล่าง ที่ BEC 20 KV WD 15 mm. กำลังขยาย 100 เท่า ขนาดสเกล 100 ไมครอน โดยนำข้อมูลที่ได้จากภาพ SEM มาวิเคราะห์หาพื้นที่ที่พบเศษสิ่งตกค้างบนตะไคร้ไฟด้วยโปรแกรมอิมเมจ โปรพลัส รุ่น 7.0 ดังรูปที่ 2

การวิเคราะห์ธาตุด้วยอีดีเอส (Energy-dispersive X-ray spectroscopy; EDS)

จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่กำลังขยาย 100 เท่า เมื่อพบสิ่งตกค้างจะวิเคราะห์ธาตุด้วยอีดีเอส (รูปที่ 3 และรูปที่ 4)

การประเมินการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนตะไคร้ไฟ

ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนตะไคร้ไฟภายหลังจากการทำทำความสะอาดและผ่าน กระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ กลุ่มควบคุมเป็นกลุ่มที่ไม่ใช้งานในผู้ป่วย จำนวน 5 อัน/กลุ่ม กลุ่มทดสอบเป็นกลุ่มที่ใช้งานในผู้ป่วย โดย นำตะไคร้ไฟแช่ในน้ำยาทำความสะอาดตะไคร้ไฟที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างความถี่สูง ที่มีน้ำยา ทำความสะอาดตะไคร้ไฟที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที ตามผังแสดงการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และนำตะไคร้ไฟทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เลี้ยงเชื้อต่อไป ดังรูปที่ 5



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการศึกษาตะไบไฟล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและวิเคราะห์ธาตุ
 Figure 1 Diagram Showing testing Procedure.

ผลการศึกษา

การประเมินตะไบไฟล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยร้อยละพื้นที่ผิวที่สะอาดของตะไบไฟล์รักษาคลองรากฟันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ ในระยะเวลาต่างกัน (15, 20 และ 30 นาที) ที่ล้างทำความสะอาดในเครื่องล้างความถี่สูง

ด้วยสถิติไคสแควร์ (Chi-square test) มีระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์กับระยะเวลาการทำความสะอาดตะไบไฟล์ในเครื่องล้างความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที ถ้ามีสิ่งตกค้างติดบนตะไบไฟล์จะทำการวิเคราะห์พื้นที่ของตะไบไฟล์ โดยใช้สถิติ Kruskal-Wallis H ในการทดสอบ (ตารางที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งตกค้างกับเวลาการทำความสะอาดตะไบไฟล์ในเครื่องล้างความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที

สิ่งตกค้าง	ระยะเวลาในการทำความสะอาด			รวม	x ²	P value
	15 นาที	20 นาที	30 นาที			
พบสิ่งตกค้าง	2(4.4)	1(2.2)	0(0)	3(2.2)		
ไม่พบสิ่งตกค้าง	43(95.6)	44(97.8)	45(100)	132(97.5)	2.045	.360
รวม	45(100)	45(100)	45(100)	135(100)		

Chi-square =2.045; df=2; p=.360

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของสิ่งตกค้างในตะไบไฟล์ที่ทำทำความสะอาดในอ่างน้ำความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที

กลุ่ม	ระยะเวลา (นาที)	พื้นที่ของสิ่งตกค้าง		ร้อยละของสิ่งตกค้าง		ค่าเฉลี่ย ร้อยละของสิ่งตกค้าง	P value
		ด้านบน	ด้านล่าง	ด้านบน	ด้านล่าง		
		(ตารางไมครอน)		(ตารางไมครอน)			
ควบคุมลบ	15, 20, 30	0	0	0	0	0*	
ทดสอบ	15	2,389	1,123	1.99	1.86	1.925*	p<0.05
	20	143	0	0.23	0	0.115*	p<0.05
	30	0	0	0	0	0	p=0.149

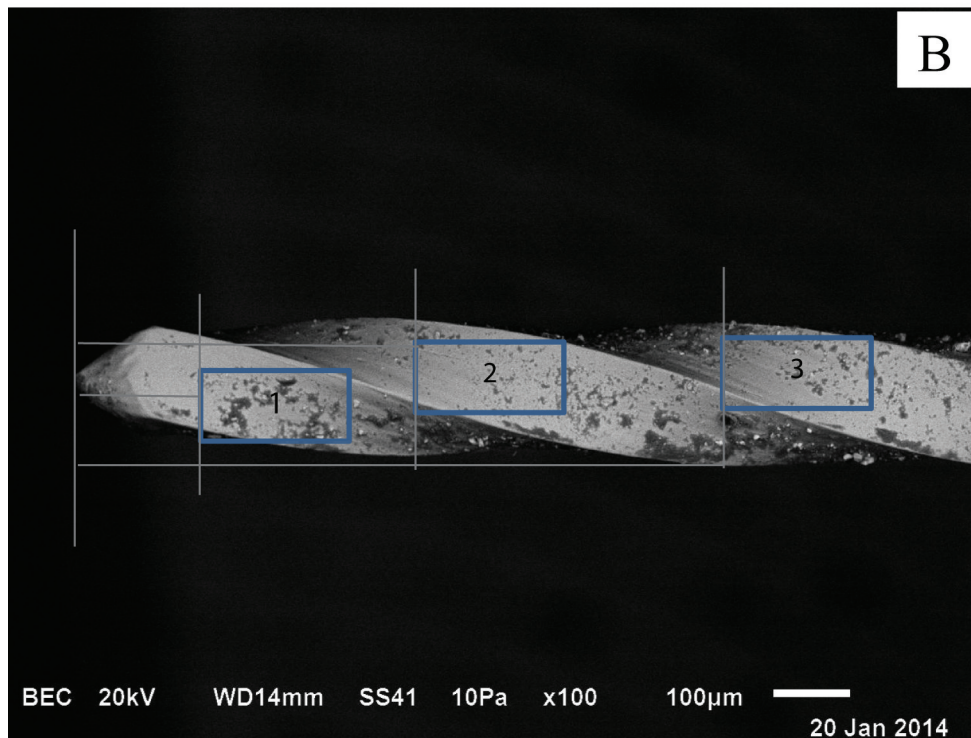
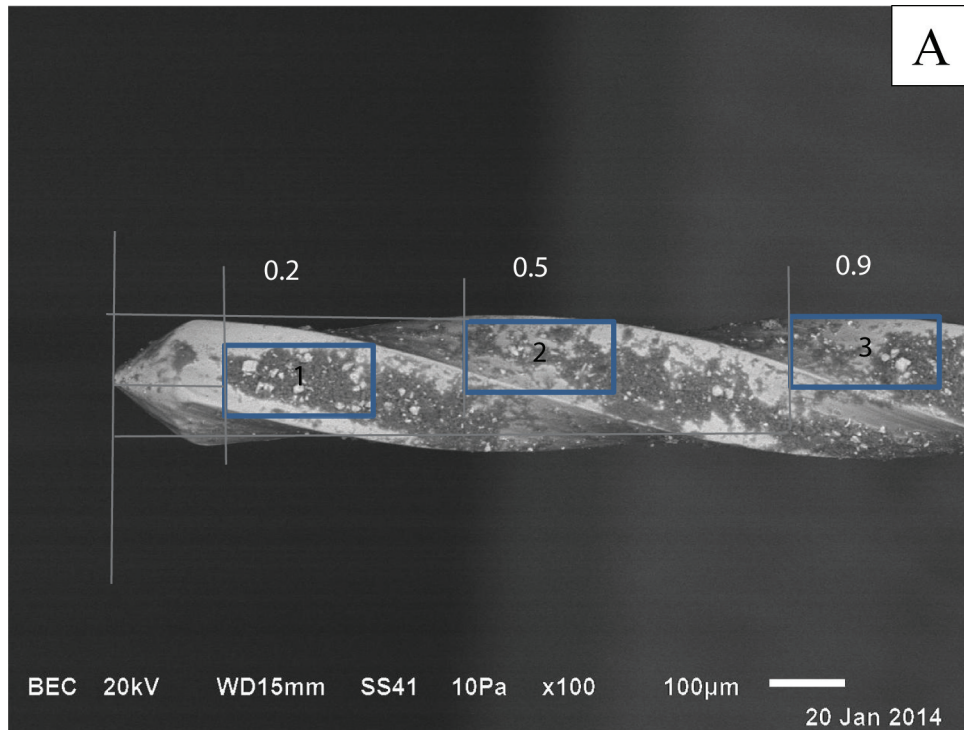
* Kruskal-Wallis H test demonstrated a significant difference between each of the cleaning procedures. (p value 0.05)

การวิเคราะห์ธาตุด้วยอีดีเอส (Energy-dispersive X-ray spectroscopy; EDS)

เมื่อแช่ตะไบไฟล์ในน้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์และทำความสะอาดในเครื่องล้างความถี่สูงเป็นระยะเวลา 15 นาที ยังพบสิ่งตกค้างติดบนตะไบไฟล์เล็กน้อยในบางอัน ได้แก่ ธาตุแคลเซียม (Ca), ธาตุเหล็ก (Fe), ธาตุฟอสฟอรัส (P), ธาตุโครเมียม (Cr), ธาตุแมงกานีส (Mn) และธาตุแกลิเดียม (Gd) ซึ่งเป็นธาตุที่อยู่ในส่วนประกอบของโลหะที่ทำเครื่องมือไม่ใช่เนื้อเยื่อ ทำให้ทราบว่าสิ่งตกค้างที่พบเป็นส่วนประกอบของโลหะ ซึ่งไม่ใช่สารชีวโมเลกุลประเภทสารอินทรีย์ (รูปที่ 3)

จากการวิเคราะห์สิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์ (K-file) (รูปที่ 4) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและวิเคราะห์ธาตุด้วยอีดีเอส ที่กำลังขยาย 1000 เท่า จากภาพ (A) ตะไบไฟล์ ที่ไม่มีการปน

เปื้อนของสิ่งตกค้างพบว่า ธาตุส่วนใหญ่ คือ ธาตุเหล็ก (Fe), ธาตุโครเมียม (Cr) และธาตุนิเกิล (Ni) ส่วนภาพ (B) ตะไบไฟล์บริเวณพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของสิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์ พบว่า มีธาตุอื่นๆ คือ ธาตุสังกะสี (Zn), ธาตุโซเดียม (Na), ธาตุฟอสฟอรัส (P), ธาตุแคลเซียม (Ca) และภาพ (C) พบธาตุที่เพิ่มขึ้นคือ ธาตุซิลเฟอร์ (S) และธาตุแบเรียม (Ba) ซึ่งธาตุฟอสฟอรัส (P) และธาตุแคลเซียม (Ca) เป็นแร่ธาตุที่พบมากในฟันและอาจพบแร่ธาตุอื่นๆ เช่น ธาตุสังกะสี (Zn) และธาตุโซเดียม (Na) เป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อร่างกาย ส่วนธาตุกำมะถัน (S) หรือซิลเฟอร์ มีเลขอะตอม 16 เป็นอโลหะที่มีอยู่ทั่วไป ไม่มีรสหรือกลิ่น และมีวาเลนซ์ได้มากมาย ปกติเป็นของแข็งสีเหลืองที่เป็นผลึกในธรรมชาติ สามารถพบได้ในรูปธาตุเอง หรือแร่ซิลไฟด์และซิลเฟต เป็นธาตุจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิต และพบในกรดอะมิโนหลาย



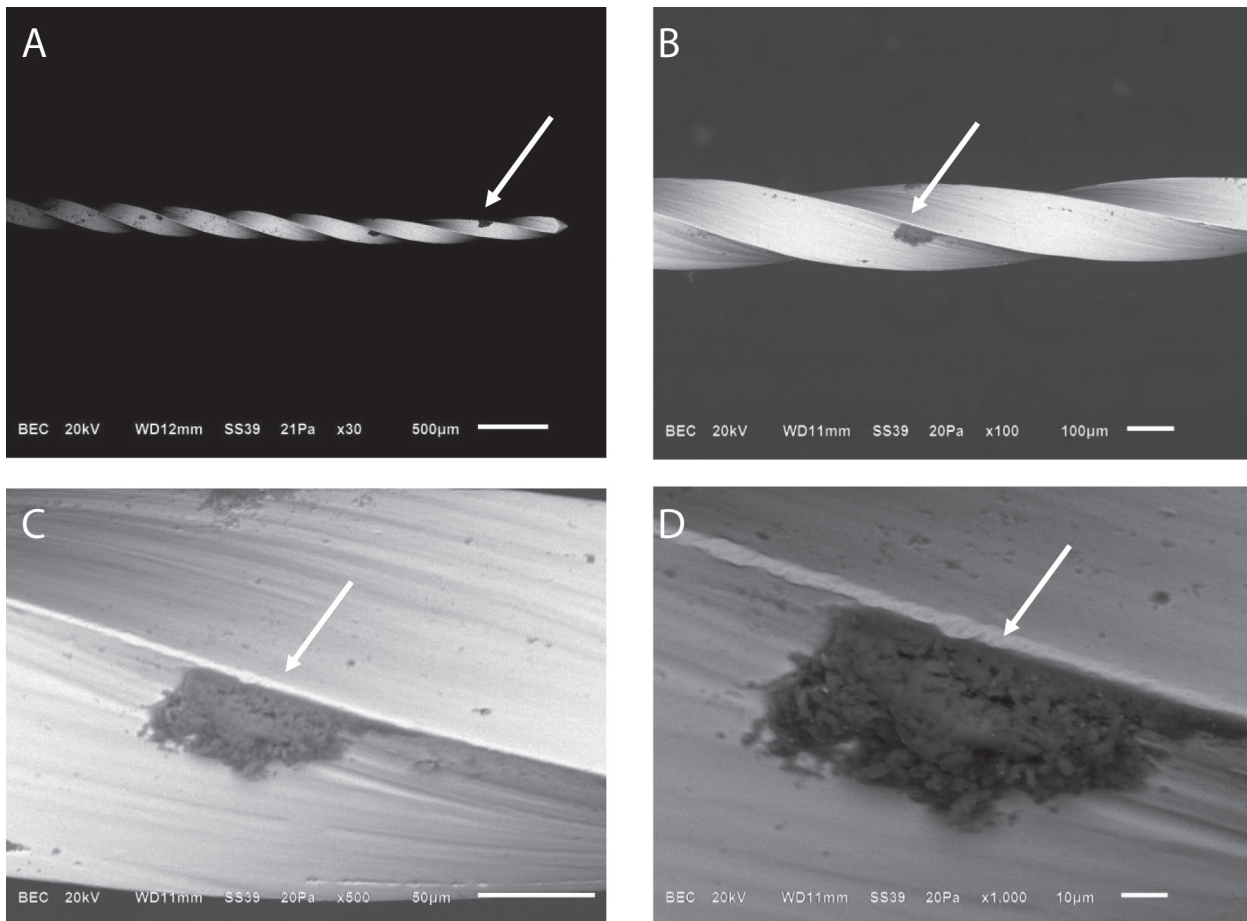
รูปที่ 2 การวัดพื้นที่เศษสิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์ชนิดเค (K-file) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด 2A. พื้นผิวด้านบนของตะไบไฟล์ กำลังขยาย 100 เท่า 2B. พื้นผิวด้านล่างของตะไบไฟล์ กำลังขยาย 100 เท่า

Figure 2 Scanning electron micrograph of used K-files after instrumentation in root canal treatment 2A. Upper surface of used K-file, Mag. 100x and 2B. Lower surface of used K-file, Mag. 100x.

ชนิด ส่วนธาตุแบเรียม (Ba) เป็นธาตุที่มีหมายเลขอะตอม 56 และสัญลักษณ์คือ Ba แบเรียมเป็นธาตุโลหะแอลคาไลน์เอิร์ทมีลักษณะเป็นสีเงินอ่อนนุ่ม หลอมเหลวที่อุณหภูมิสูงมาก ออกไซด์ของมันเรียกแบริตา (baryta) ตามธรรมชาติพบในแร่แบไรต์ไม่พบในสภาพบริสุทธิ์เพราะไวต่อปฏิกิริยาเคมีกับอากาศ การทำความสะอาดตะไบไฟลท์ที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที มีความสะอาดเพียงพอในการใช้งานรักษาคลองรากฟันในผู้ป่วย เนื่องจากสิ่งตกค้างที่พบเป็นแร่ธาตุบนตะไบไฟลท์มีอยู่น้อยมาก

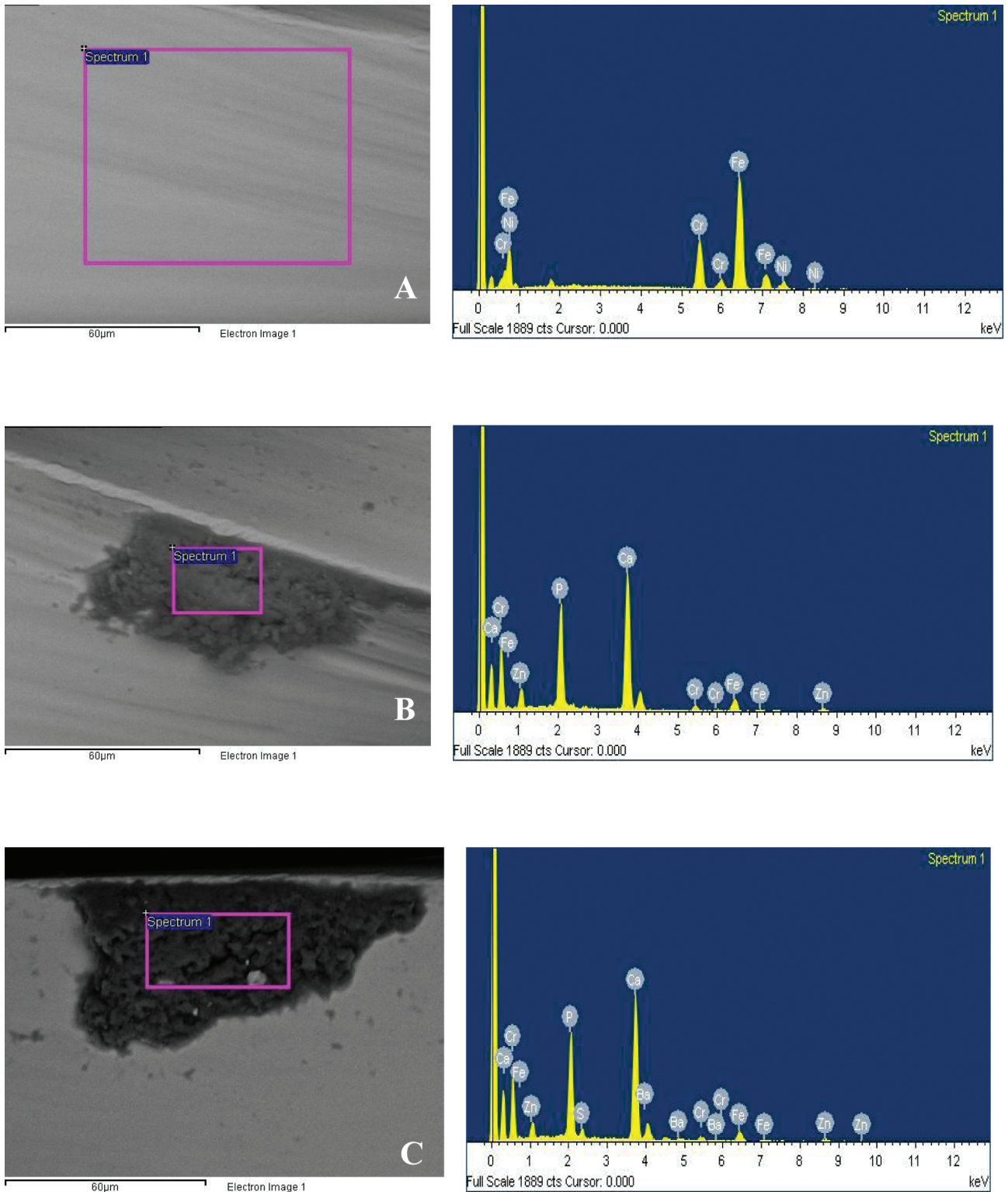
การประเมินการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนตะไบไฟลท์

มีรายงานการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนตะไบไฟลท์ ภายหลังจากการทำทำความสะอาดและผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำ⁶⁻⁸ โดยศึกษาความชุ่มของอาหารเลี้ยงเชื้อจากการนำตะไบไฟลท์รักษาคลองรากฟันที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อชุ่มจะนำไปเพาะเชื้อต่อในอาหารรุ้นที่มีเลือดผสมร้อยละ 5 และเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบและกลุ่มควบคุมบวก



รูปที่ 3 เศษสิ่งตกค้างติดบนตะไบไฟลท์ชนิดเค ภายหลังจากการใช้งานรักษาคลองรากฟันในคลินิกดังกล่าว (A-D) ที่กำลังขยาย 30, 100, 500 และ 1000 เท่า ขนาดสเกล 10-500 ไมครอน

Figure 3 Scanning electron micrograph of debris on used K-files no 15 size 21 mm after instrumentation in root canal Treatment (A-D). A. Mag.30x, B. Mag.100x, C. Mag.500x, D. Mag.1000x. Arrows indicated debris on used K-files. Scale bar, 500um, 100um, 50um, and 10um respectively.



รูปที่ 4 เศษสิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์ (K-file) ภายหลังจากวิเคราะห์ธาตุด้วยเอ็ดไอเอส ที่กำลังขยาย 1000 เท่า (A. กลุ่มควบคุม B. และ C. กลุ่มทดสอบ)

Figure 4 Debris on the K-file after analyzing by EDS, Meg.1000x
 A) control group B, C) experiment group

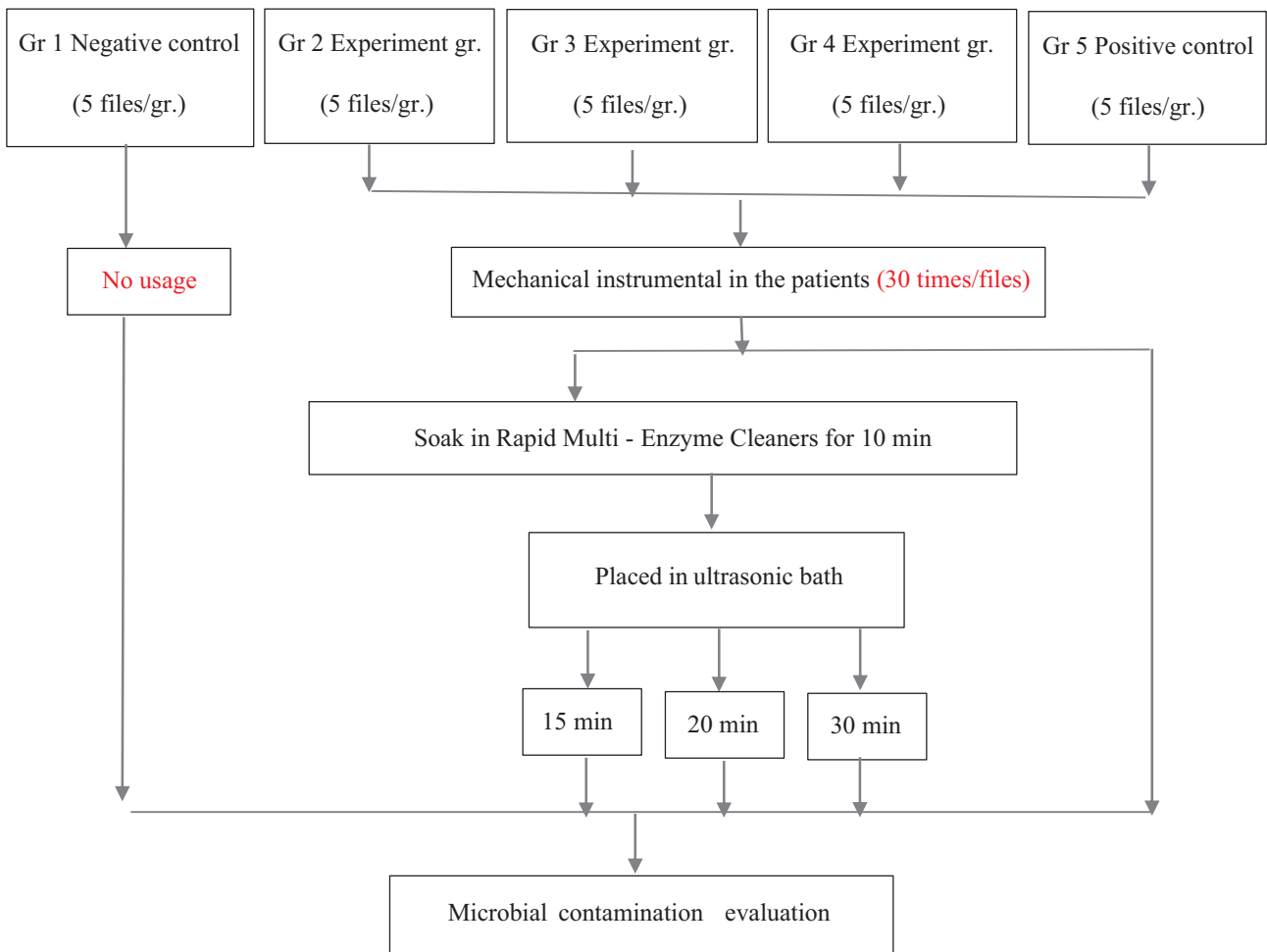
จากนั้นประเมินจำนวนโคโลนี (colony) ด้วยเครื่องนับโคโลนี เก็บข้อมูลผลการศึกษาก่อนทำความสะอาดตะไบไฟล์ (file) เพื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาวิจัยที่ได้ และนำมาวิเคราะห์ข้อมูล

การนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิต โดยวิธีทำให้เชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างเจือจางลงด้วยน้ำเกลือ (dilution plate count) ซึ่งใช้ในการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างตะไบไฟล์ที่ผ่านกระบวนการนี้ฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำแล้วในกลุ่มทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบและกลุ่มควบคุมบวก ซึ่งวิธีการนับโคโลนีจากอาหารที่ทำการเจือจางเชื้อแบคทีเรีย เป็นเทคนิคที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างเจือจางลงด้วยน้ำเกลือที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วร้อยละ 0.85 โดยทำให้เชื้อแบคทีเรียเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า เพื่อ

ให้มีการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 30-300 โคโลนี (colony forming unit; CFU)

การนับจำนวนแบคทีเรียของตะไบไฟล์ในงานเพาะเชื้อ

ศึกษาวิจัยโดยการนำตะไบไฟล์ใส่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Liquid medium; Becton, Dickinson and Company Sparks, USA) ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมลบ คือตะไบไฟล์ที่ไม่ใช้งานกับผู้ป่วย แต่ทำความสะอาดและหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว กลุ่มทดสอบคือตะไบไฟล์ที่ใช้งานกับผู้ป่วยแล้วนำมาทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างทำความสะอาดความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที และหนึ่งฆ่าเชื้อส่วนกลุ่มควบคุมบวก คือ ตะไบไฟล์ที่ใช้งานกับผู้ป่วยแต่ไม่ทำความสะอาดและไม่หนึ่งฆ่าเชื้อ ตะไบไฟล์เหล่านี้



รูปที่ 5 แผนภาพแสดงการศึกษาก่อนแปรรูปเชื้อจุลินทรีย์บนตะไบไฟล์
Figure 5 Diagram showing microbial contamination evaluation.

จะถูกบ่มในตู้เพาะเชื้อ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-72 ชม. พบว่า กลุ่มควบคุมลบและกลุ่มทดสอบ ไม่พบความชุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนกลุ่มควบคุมบวก พบความชุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงนำมาวัดความหนาแน่นของเซลล์ โดยการวัดความชุ่มจากการเก็บเซลล์แบบทีเรีย ทำการปั่นล้างเซลล์ที่ 2500 รอบ/นาทิต เป็นเวลานาน 15 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือ ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วร้อยละ 0.85 จำนวน 2 ครั้ง เติมน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกันกับแบคทีเรีย ก่อนนำไปวัดความชุ่มที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดความเข้มแสง (Spectrophotometer) ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.1 เจือจางแบคทีเรียลงครั้งละ 10 เท่า จนถึง 10^{-5} , 10^{-6} และ 10^{-7} ดูดสารละลายแบคทีเรีย 0.1 มิลลิลิตร หยดลงตรงกลางจานอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Agar medium; Becton, Dickinson and Company Sparks, USA.) ชนิดที่มีเลือดผสมร้อยละ 5 แล้วเกลี่ยด้วยแท่งแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้แห้งโดยทำแต่ละความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. นับจำนวนโคโลนิบนอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนิ/หนึ่งจานเลี้ยงเชื้อ

คำนวณจำนวนโคโลนิต่อตัวอย่าง

จำนวนโคโลนิเฉลี่ยที่นับได้บนจานเลี้ยงเชื้อในกลุ่มควบคุมบวก เท่ากับ 264 โคโลนิ นับได้จากจานเลี้ยงเชื้อที่เติมน้ำตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-5} ดังนั้นจำนวนแบคทีเรียจากการนับโคโลนิ มีจำนวน 264 โคโลนิ ได้มาจากน้ำตัวอย่างเจือจาง 10^{-5} มล. จำนวน 0.1 มล. ดังนั้นในน้ำตัวอย่าง 1 มล. จะมีแบคทีเรียจำนวน $264 \times 10^5 \times 10$ เท่ากับ 2.64×10^8 CFU/ml.

บทวิจารณ์

ผลการทดลองพบว่า การทำความสะอาดตะไบไฟลีนในอ่างน้ำความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที สามารถช่วยกำจัดสิ่งตกค้างไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของสิ่งตกค้าง

บนตะไบไฟลีนที่ทำความสะอาดในอ่างน้ำความถี่สูงที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาทีพบว่า น้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟลีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ระยะเวลา 15 นาที ทำให้ตะไบไฟลีนมีความสะอาดร้อยละ 98.075 แต่ยังมีสิ่งตกค้างเฉลี่ยร้อยละ 1.925 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Van Eldik และคณะ⁹ ที่พบว่า เมื่อนำตะไบไฟลีนมาทำความสะอาดในอ่างน้ำความถี่สูงหรือในเครื่องทำความสะอาดด้วยไอน้ำและความร้อนที่อุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และชะล้างด้วยน้ำครั้งสุดท้ายที่อุณหภูมิ 80-93 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอีก 10 นาที สามารถลดสิ่งตกค้างหรือเชื้อแบคทีเรียได้ถึงร้อยละ 99.88 และร้อยละ 99.98 เรียงตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทำความสะอาดตะไบไฟลีน เป็นเวลา 20 นาที พบว่ามีความสะอาดร้อยละ 99.885 และมีสิ่งตกค้างร้อยละ 0.115 และ ที่ระยะเวลา 30 นาที พบว่าไม่มีสิ่งตกค้างในตะไบไฟลีน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทำให้ตะไบไฟลีนสะอาดมากขึ้น ($P < 0.05$)

ส่วนกลุ่มควบคุม คือตะไบไฟลีนไม่ใช้งานกับผู้ป่วยและไม่พบสิ่งตกค้างในตะไบไฟลีน แต่ในการศึกษาคครั้งนี้ผลการทดลอง พบว่าตะไบไฟลีนมีสิ่งตกค้างเนื่องจาก ตะไบไฟลีนในกลุ่มทดสอบมีลักษณะผิวตะไบไฟลีนแห้งมาก จึงพบว่ามีสิ่งตกค้างในตะไบไฟลีนในบางอันภายหลังจากทำความสะอาดตะไบไฟลีนเป็นเวลา 15 นาที ซึ่งระยะเวลานี้อาจน้อยเกินไป จึงทำให้สิ่งตกค้างไม่หลุดออกจากตะไบไฟลีน แต่การศึกษานี้ได้ออกแบบการทดลองให้ใกล้เคียงกับการทำความสะอาดตะไบไฟลีนของคณะฯและเพิ่มเวลาเป็น 20 นาที และ 30 นาที เมื่อเปรียบเทียบผลการทำความสะอาดตะไบไฟลีน เพื่อศึกษาสิ่งตกค้างในตะไบไฟลีนที่เกิดขึ้นภายหลังการทำความสะอาดตะไบไฟลีน และมีการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนตะไบไฟลีน จากการใช้งานตะไบไฟลีนกับฟันวีวในหองปฏิบัติการวิจัย ภายหลังจากการใช้งานแบ่งตะไบไฟลีนเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีการทำความสะอาดและกลุ่มที่ไม่

มีการทำความสะอาด โดยที่ตะไบไฟล์ทั้ง 2 กลุ่มไม่ได้ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนั่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำหรือน้ำยาไฮโรเธกของสารเคมี ผลการทดลอง พบว่าตะไบไฟล์ทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน นั่นคือ พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนั่งฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ แต่หากนำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างทำความสะอาด หรือน้ำยาทำความสะอาดเอนไซม์ และนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนั่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำหรือน้ำยาไฮโรเธกของสารเคมี ไม่พบว่ามี การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์¹⁰ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ เมื่อทำความสะอาดตะไบไฟล์แล้วผ่านการนั่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำสามารถทำให้สิ่งตกค้างหลุดออกไปได้ถึง 98.00-99.98% และไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ภายหลังการทำความสะอาดด้วยน้ำยาทำความสะอาด (Rapid Multi-Enzyme Cleaners) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนั่งฆ่าเชื้อระบบไอน้ำเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการทำความสะอาดตะไบไฟล์เพื่อกำจัดเศษสิ่งตกค้างบนตะไบไฟล์ในห้องปฏิบัติการวิจัย¹¹ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ตะไบไฟล์ที่ล้างทำความสะอาดด้วย 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และทำความสะอาดด้วยการเช็ดด้วยผ้าก๊อซ แล้วแช่ใน 70% แอลกอฮอล์ เป็นเวลา 10 นาที กลุ่มที่ 2 ตะไบไฟล์ที่ล้างทำความสะอาดด้วย 2% กลูตารัลดีไฮด์เป็นเวลา 10 นาที และทำความสะอาดด้วยการเช็ดด้วยผ้าก๊อซ กลุ่มที่ 3 ตะไบไฟล์ที่ล้างทำความสะอาดด้วยแปรงชนิดไนลอนด้วยความถี่จำนวน 20 ครั้ง และล้างแบบเขย่าใน 0.2% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต เป็นเวลา 10 นาที กลุ่มที่ 4 ตะไบไฟล์ที่ล้างทำความสะอาดด้วยแปรงชนิดไนลอนด้วยความถี่จำนวน 20 ครั้ง และล้างแบบเขย่าใน 3% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ เป็นเวลา 10 นาที และนำตะไบไฟล์มาใส่ในเครื่องล้างที่มีคลื่นความถี่สูงซึ่งมีน้ำยาเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที และกลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มควบคุม ที่ใช้ตะไบไฟล์อันใหม่จากกล่องโดยล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นและทำให้

แห้ง พบว่า ตะไบไฟล์ที่ทำความสะอาดด้วยแปรงชนิดไนลอนด้วยความถี่จำนวน 20 ครั้ง และล้างแบบเขย่าใน 3% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ เป็นเวลา 10 นาที และใส่ตะไบไฟล์ในเครื่องล้างที่มีคลื่นความถี่สูงซึ่งมีน้ำยาเอนไซม์เป็นเวลา 15 นาที มีประสิทธิภาพดีกว่ากลุ่มอื่นๆ และการทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างทำความสะอาดจะมีประสิทธิภาพดีกว่าเช็ดด้วยผ้าก๊อซ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่ผู้วิจัยใช้น้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ในเครื่องล้างที่มีคลื่นความถี่สูงทำให้เศษสิ่งตกค้างหลุดออกจากตะไบไฟล์ได้ถึง 98.00-99.98%

การศึกษาลงของน้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์ ที่ระยะเวลา 15, 20 และ 30 นาที พบว่าสามารถทำความสะอาดตะไบไฟล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นไม่พบสิ่งตกค้างที่ระยะเวลา 30 นาที และเมื่อศึกษาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากการทำความสะอาดตะไบไฟล์และผ่านกระบวนการนั่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำ พบว่า ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของตะไบไฟล์ในกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจึงมั่นใจได้ว่าระบบการนั่งฆ่าเชื้อด้วยระบบไอน้ำของคณะทันตแพทยศาสตร์ เป็นระบบการควบคุมการปฏิบัติงานตามหลักของการป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายเชื้อ

สรุปผลการวิจัย

การทำความสะอาดตะไบไฟล์ จึงควรนำตะไบไฟล์มาล้างทำความสะอาดในอ่างน้ำความถี่สูง ที่มีน้ำยาล้างทำความสะอาดตะไบไฟล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 30 นาที และทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนั่งฆ่าเชื้อระบบไอน้ำก่อนนำไปใช้ในการรักษาคลองรากฟันในผู้ป่วย ส่วนตะไบไฟล์ที่ใช้งานแล้วแห้งมากเกินไป ควรเพิ่มเวลาการทำความสะอาดตะไบไฟล์ จะทำให้สิ่งตกค้างหลุดออกได้เร็วขึ้น เพราะการทำความสะอาดตะไบไฟล์ที่เวลา 15 นาที และ 20 นาที ก็สามารถทำให้สิ่งตกค้างหลุดออกได้ถึง 98.00-99.98% ประสิทธิภาพของน้ำยาทำความสะอาด

สะอาดตะไบไฟล์รักษาคลองรากฟัน ควรใช้ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมสำหรับทำความสะอาดตะไบไฟล์ คือ น้ำยาทำความสะอาดตะไบไฟล์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ระยะเวลา 30 นาที เพราะไม่พบสิ่งตกค้างในตะไบไฟล์ จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด และไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของตะไบไฟล์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกและกลุ่มควบคุมลบ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ.2558

Funding: Faculty of Dentistry General Research Fund, Mahidol University 2015.

Competing interests: None declared

Ethical approval: None declared.

เอกสารอ้างอิง

1. Smith A, Dickson M, Aitken J, Bagg J. Contaminated dental Instruments. J Hosp Infect 2002; 51: 233-235.
2. Spencer RC, Perry C. Decontamination of reusable surgical instruments. Hosp Med 2001; 62: 662-663.
3. Johnson MA, Primack PD, Loushine RJ, Craft DW. Cleaning of endodontic files, Part I: The effect of bioburden on the sterilization of endodontic files. J Endod 1997; 23: 32-34.
4. Eldik DV, Zilm PS, Rogers AH, Marin PD. A SEM evaluation of debris removal from endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. Aust Dent J 2004; 49: 128-135.
5. Venkatasubramanian R, Jayanthi, Das UM, Bhatnagar S. Comparison of the effectiveness of sterilizing endodontic files by 4 different methods: an in vitro study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2010; 28: 2-5.
6. Morrison A, Conrod S. Dental Burs and Endodontic Files: Are Routine Sterilization Procedures Effective?. JCD 2009; 75: 39a-39d.
7. Boyd KS, Sonntag KD, Crawford JJ. Efficacy of sterilization of endodontic files after autoclaving in a synthetic sponge. Int Endod J. 1994; 27: 330-333.
8. Mitchell BF, James GA, Nelson RC. The effect of autoclave sterilization on endodontic files. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1983; 55: 204-207.
9. Eldik DV, Zilm PS, Rogers AH and Marins PD. Microbiological evaluation of endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. Aust Dent J 2004; 49: 122-127.
10. Johnson MA, Primack PD, Loushine RJ, Craft DW. Cleaning of endodontic files, part I: The effect of bioburden on the sterilization of endodontic files. J of Endod. 1997; 23: 32-34.
11. Syed Z, Shreetha B, Pramod J, Raghu S, Mahesh M.C. A comparative evaluation of the effectiveness of different cleaning protocols on removal of biological debris on endodontic instruments – An in vitro study. Endodontology. 2013; 25: 19-26.

