ผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ : การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

นางสาว พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE EFFECT OF 500 AND 1000 PPM FLUORIDE DENTIFRICES ON GROWTH OF CARIOGENIC BACTERIA : IN VITRO

Miss Pimpilai Limsomwong

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pediatric Dentistry

Department of Pediatric Dentistry
Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500และ1000 ส่วนในล้านส่วนต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ : การศึกษาในห้องปฏิบัติการ
โดย	นางสาว พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์
สาขาวิชา	ทันตกรรมสำหรับเด็ก
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงวัชราภรณ์ ทัศจันทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงพัชรา พิพัฒนโกวิท

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ฐิติมา ภู่ศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงรุจิรา เผื่อนอัยกา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงวัชราภรณ์ ทัศจันทร์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงพัชรา พิพัฒนโกวิท)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงชุติมา ไตรรัตน์วรกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. อรนาฏ มาตังคสมบัติ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์ : ผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ : การศึกษาในห้องปฏิบัติการ. (THE EFFECT OF 500 AND 1000 PPM FLUORIDE DENTIFRICES ON GROWTH OF CARIOGENIC BACTERIA : IN VITRO) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ทพญ. วัชราภรณ์ ทัศจันทร์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ทพญ. พัชรา พิพัฒนโกวิท, 84 หน้า.

โรคฟันผุเป็นโรคติดเชื้อที่สามารถติดต่อได้ เกิดขึ้นโดยการทำลายโครงสร้างของฟันจากแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดที่พบในคราบจุลินทรีย์ ฟลูออไรด์เป็นสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุ นอกจากนี้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ได้ถูกแนะนำมาใช้ในการลดความชุกของการเกิดฟันผุ นอกจากกลไกของฟลูออไรด์ในการลดการละลายของเคลือบฟันและส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุแล้ว ฟลูออไรด์ยังมีผลรบกวนเมตาบอลิซึมและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ATCC 25175 แลคโตแบซิลลัส เคซีไอ IFO 3533* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอร์บรินัส OMZ 176a* ได้ถูกนำมาทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด และ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนอีก 6 ชนิด โดยนำยาสีฟันมาละลายน้ำ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนโดยฟลูออไรด์อิเล็กโทรด และนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น จากนั้นนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Image Pro Plus (version 4.5) และนำมาคำนวณหาพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น ผลการทดสอบภายในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนพบว่าพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>.05$) แต่เมื่อทดสอบภายในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) และเมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญ ($p<.05$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้นอื่นๆต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุทั้งในห้องปฏิบัติการและคลินิกต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา...ทันตกรรมสำหรับเด็ก ลายมือชื่อนิสิต.....พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์.....

สาขาวิชา..ทันตกรรมสำหรับเด็ก ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....วัชราภรณ์ ทัศจันทร์.....

ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....พัชรา พิพัฒนโกวิท.....

4876117232 : MAJOR PEDIATRIC DENTISTRY

KEY WORD: EFFECT / FLUORIDE DENTIFRICE / CARIOGENIC BACTERIA

PIMPILAI LIMSOMWONG : THE EFFECT OF 500 AND 1000 PPM FLUORIDE DENTIFRICES ON GROWTH OF CARIOGENIC BACTERIA : IN VITRO. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF. WACHARAPORN TASACHAN, THESIS COADVISOR : ASSST.PROF PATCHARA PIPATTANAGOVIT, 84 pp.

Dental caries is an infectious, communicable disease resulting in destruction of tooth structure by acid-forming bacteria found in dental plaque. Fluoride plays a key role in caries prevention. Fluoride toothpaste is recommended for using reducing caries prevalence. The mechanism of fluoride are reduce enamel solubility, enhance enamel remineralization, moreover, fluoride can affect bacteria. The purpose of this study was to compare antimicrobial effect of 500 and 1000 ppm fluoride dentifrices that distributed in Thailand. *Streptococcus mutans (ATCC 25175) Streptococcus sorbrinus (OMZ 176a) Lactobacillus casei (IFO 3533)* were involved in this study. Fluoride dentifrices brought from the local market, which 6 dentifrices were containing 500 ppm fluorides and 6 dentifrices were containing 1000 ppm fluoride. Supernatants from each were prepared, soluble fluoride ion was analyzed by fluoride electrode, and bring to test against bacteria in agar plates by agar diffusion method. The diameter of the bacterial zone of inhibition was measurement by Image Pro Plus® program (version 4.5) and calculated to bacterial inhibition area. The results show that there were no significant differences among the mean bacterial inhibition zone of 500 ppm fluoride dentifrices($p>.05$). In contrast, there were statistically significant differences among mean bacterial inhibition zone of 1000 ppm fluoride dentifrices($p<.05$). When compare between 500 and 1000 ppm fluoride dentifrices, there was a statistically significant difference ($p<.05$). The present study was found that the quantity of soluble fluoride ions from fluoride dentifrices has correlation with antimicrobial effect and point out to need for further study in vitro and in vivo to compare clinical effectiveness in cariogenic bacterial inhibition with other concentration of fluoride dentifrices.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department ...Pediatric dentistry
Field of study ..Pediatric dentistry
Academic year 2007

Student's signature Pimpilai Limsomwong
Advisor's signature Wacharaporn Tasachan
Co-advisor's signature Patchara Pipattanagovit

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง วัชราภรณ์ ทัศจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง พัชรา พิพัฒนโกวิท อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาสละเวลาดูแล ให้คำแนะนำ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาสละเวลาช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ Professor Motoyuki kasai Department of Bacteriology Hiroshima University ที่กรุณาเอื้อเฟื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ IFO 3533* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส OMZ 176a*

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำทางสถิติ

ขอขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยากรุณาเอื้อเฟื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ATCC 25175* คุณวันเพ็ญ ซินเฮง นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ภาคจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณมารศรี อุชชิน นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีวเคมีที่ให้คำแนะนำในการตรวจวัดปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟัน

ขอขอบพระคุณภาควิชาเภสัชวิทยา ที่กรุณาเตรียมยาสีฟันสูตรมาตรฐานที่ไม่มีฟลูออไรด์เพื่อใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ นักวิทยาศาสตร์ประจำศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณพระเจ้า และระลึกถึงพระคุณของบิดา มารดา ครอบครัว ผู้มีพระคุณทุกท่านที่ไม่สามารถกล่าวนามได้ทั้งหมดตลอดจนเพื่อนๆ ที่ช่วยเหลือในการทำงานและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญภาพ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ..... 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
คำถามการวิจัย..... 3
วัตถุประสงค์การวิจัย..... 4
สมมติฐานการวิจัย..... 4
ขอบเขตการวิจัย..... 4
ข้อตกลงเบื้องต้น..... 4
ข้อจำกัดของการวิจัย..... 4
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... 5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5
กรอบแนวความคิด..... 6

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 7
สาเหตุและกระบวนการเกิดโรคฟันผุ..... 7
คุณสมบัติของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดฟันผุ..... 9
ฟลูออไรด์..... 16
กลไลการทำงานของฟลูออไรด์..... 18
บทบาทของฟลูออไรด์ต่อเชื้อจุลชีพ..... 19
การใช้ฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุ..... 24
ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์..... 25
การทดสอบความไวของยาต่อเชื้อแบคทีเรีย..... 28

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 31
ประชากรและตัวอย่าง..... 31
สิ่งแทรกแซง..... 31
ขนาดตัวอย่างและการสุ่มตัวอย่าง..... 33
วิธีการทดลอง..... 35
การหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำได้ในยาสีฟัน..... 35
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ..... 35
สารที่ใช้ในการทดสอบ..... 35
การทดสอบความไวของยาสีฟันแต่ละชนิดต่อเชื้อแบคทีเรีย..... 36
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ..... 36
สารที่ใช้ในการทดสอบ..... 37
การรวบรวมข้อมูล..... 40
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 41

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 43
ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟัน..... 43
การปรับปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย..... 44
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์แต่ละชนิด..... 45
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน..... 46
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน..... 48
ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน..... 51
ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 1000 ส่วนในล้านส่วนและกับยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์..... 54
ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันและการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย..... 55

บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ..... 58

อภิปรายผลการวิจัย…… 58
สรุปผลการวิจัย…….... 66
ข้อเสนอแนะ……... 66

รายการอ้างอิง……..67
ภาคผนวก…… 74
ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบ…… 75
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 13.0…….....79
ภาคผนวก ค การทดสอบความแม่นยำในการวัด……..83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์…….. 84

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

ตารางที่ 1 ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออน……..... 44

ตารางที่ 2 พื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์…….....45

ตารางที่ 3 ปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟัน.....75

ตารางที่ 4 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*..... 76

ตารางที่ 5 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*……..…….....77

ตารางที่ 6 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (มิลลิเมตร) ของเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*..... 78

ตารางที่ 7 สถิติเชิงพรรณนาของค่าเฉลี่ยพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นเมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน……..... 79

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างชนิดยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน……..... 79

ตารางที่ 9 สถิติเชิงพรรณนาของค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นเมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน……..... 80

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างชนิดยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน……..... 80

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างชนิดยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน…..... 81

ตารางที่ 12 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นอิออนและพื้นที่ของบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรีย……..... 82

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น……..... 83

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

แผนภูมิที่ 1 การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด..... 47

แผนภูมิที่ 2 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในจานเพาะเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด.. 48

แผนภูมิที่ 3 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*แลคโตแบซิลัส เคซิไอ* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด..... 49

แผนภูมิที่ 4 การเปรียบเทียบพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด..... 50

แผนภูมิที่ 5 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด..... 51

แผนภูมิที่ 6 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน..... 52

แผนภูมิที่ 7 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วน..... 53

แผนภูมิที่ 8 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด, ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์..... 54

แผนภูมิที่ 9 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*..... 55

แผนภูมิที่ 10 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*..... 56

แผนภูมิที่ 11 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*..... 57

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

การสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติซึ่งดำเนินการสำรวจทุก 5 ปี พบว่าในปี 2543 -2544 เด็กอายุ 3 ปีมีอัตราฟันน้ำนมผุเฉลี่ยร้อยละ 65.7 มีค่าเฉลี่ยดัชนีฟันผุ อุด ถอน 5.61 สำหรับเด็กกลุ่มอายุ 5-6 ปี มีอัตราฟันน้ำนมผุเฉลี่ยร้อยละ 87.4 มีค่าเฉลี่ยดัชนีฟันผุ อุด ถอน 5.97 ในเด็กอายุ 12 ปี มีค่าเฉลี่ยดัชนีผุ อุด ถอน 1.64 จะเห็นได้ว่าโรคฟันผุเป็นปัญหาทันตสุขภาพของเด็กทุกกลุ่มอายุซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี (กองทันตสาธารณสุข, 2545)

โรคฟันผุเป็นปัญหาทันตสุขภาพของเด็กที่สำคัญซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต การพัฒนาการทางด้านภาษาซึ่งมีความสัมพันธ์กับระดับสติปัญญาด้วย เด็กที่เริ่มมีฟันผุตั้งแต่อายุน้อย การลุกลามของฟันผุจะรวดเร็วมากกว่าเมื่อเทียบกับเด็กที่มีฟันผุในอายุที่มากกว่า ฟันผุในฟันน้ำนมที่ลุกลามไปสู่ปลายรากอาจส่งผลกระทบต่อหน่อฟันแท้ที่กำลังสร้างตัวอยู่ข้างใต้ ทำให้มีการสร้างฟันแท้ที่ผิดปกติ การสูญเสียฟันน้ำนมก่อนเวลาวัยอันควร จะส่งผลให้การเรียงตัวของฟันผิดปกติไปด้วย นอกจากนี้ฟันผุเป็นจุดเริ่มต้นในการติดเชื้อได้มากมายที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น โรคหัวใจ การอักเสบในหูชั้นกลางและการเกิดโรคทางเดินหายใจส่วนบน เป็นต้น

โรคฟันผุเป็นโรคติดเชื้อที่สามารถติดต่อได้เกิดขึ้นโดยการทำลายโครงสร้างของฟันจากแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างกรดในสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ โดยปี1976 Loesche ได้เปลี่ยนแนวความคิดจากการให้ความสำคัญของสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียชนิดไม่จำเพาะที่ทำให้เกิดโรคในคราบจุลินทรีย์ (non specific plaque hypothesis) มาเป็นสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียชนิดจำเพาะที่ทำให้เกิดโรคในคราบจุลินทรีย์ (specific plaque hypothesis) (Marsh, 1993) โดยนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงแนวคิดในการรักษา จากสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียแบบไม่จำเพาะที่ทำให้เกิดโรคในคราบจุลินทรีย์จะเน้นการรักษาทางหัตถการ(surgical treatment model) กล่าวคือการรักษารอยโรคเช่น การบูรณะฟัน จากแนวคิดที่เชื่อว่าการเกิดคราบจุลินทรีย์สามารถเกิดขึ้นตลอดเวลาและไม่จำกัด ซึ่งเป้าหมายของการรักษาคือการกำจัดคราบจุลินทรีย์ออกให้หมดและนัดผู้ป่วยมาตรวจตามนัดอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งเป็นการนัดมาวินิจฉัยหาความจำเป็นของการรักษารอยโรค ไม่ใช่การรักษาการติดเชื้อ ส่วนในแนวคิดแบบสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียแบบจำเพาะที่ทำให้เกิดโรคในคราบจุลินทรีย์ การรักษาจะเน้นการใช้ยา สารเคมีร่วมในการรักษาโรค (medical

paradigm of treatment) ซึ่งทำโดยวินิจฉัยหาสาเหตุเฉพาะในแต่ละบุคคล ทำการรักษาในผู้ป่วยตามระดับความเสี่ยงของการเกิดโรค การรักษามีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดจุลชีพออกไป หลังจากนั้นผู้ป่วยจะได้รับการเรียกมาตรวจตามนัดอย่างสม่ำเสมอ เพื่อประเมินความเสี่ยงของการเกิดโรคจากการติดเชื้อ (Steinberg, 2002)

ในอดีตให้ความสำคัญกับแนวคิดในการรักษารอยโรคซึ่งเป็นการกำจัดโรคในแง่ของการพิจารณาในมุมมองใหญ่ (macroscopic) ซึ่งเป็นปลายเหตุของกระบวนการเกิดโรคฟันผุ ทำให้มองข้ามการพิจารณาในมุมมองเล็ก (microscopic) ซึ่งแท้จริงแล้วเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในกระบวนการเกิดฟันผุคือการวินิจฉัยหาความเสี่ยงก่อนที่จะเกิดรอยโรคขึ้น การเปลี่ยนแปลงแนวความคิดดังกล่าวทำให้ปัจจุบันหันมาให้ความสนใจรอยโรคที่มีการหยุดของการลุกลาม (arrest) และเกิดการคืนกลับของรอยโรค (reverse process) คำนึงถึงสาเหตุของการเกิดฟันผุในมุมมองที่เล็กลงมากกว่าการพิจารณาคำนึงถึงเฉพาะรอยโรค (Steinberg, 2002)

ในปี 1991 Marsh ได้เสนอสมมติฐานที่น่าสนใจสมมติฐานหนึ่งคือการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศในคราบจุลินทรีย์ (Ecological plaque hypothesis) ซึ่งกล่าวถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะภายในช่องปาก เช่น เมื่อช่องปากสัมผัสกับอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเป็นระยะเวลานาน แบคทีเรียสร้างกรดอย่างต่อเนื่อง ค่าความเป็นกรดด่างลดลง เกิดการเปลี่ยนแปลงภาวะสมดุลของจุลชีพในช่องปาก ทำให้แบคทีเรียที่สร้างกรดและทนต่อกรดเช่น มิวแทนสเตรปโตคอคไค(Mutan streptococci) แลคโตแบซิลไล (Lactobacilli) เพิ่มจำนวนมากขึ้นและเกิดการสูญเสียแร่ธาตุมากกว่าการคืนกลับของแร่ธาตุทำให้เกิดโรคฟันผุ (Marsh, 1993)

ดังนั้นการยับยั้งหรือกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปาก การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมในช่องปากให้อยู่ในสภาวะที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเกิดโรคจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจนำมาศึกษา

ฟลูออไรด์ได้รับว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุและแนะนำให้ใช้อย่างแพร่หลาย นอกจากกลไกในการลดการลายของเคลือบฟันและส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุแล้ว ฟลูออไรด์ยังมีผลรบกวนเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียด้วย เช่นการยับยั้งขบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) ยับยั้งกลูโคสเข้าเซลล์แบคทีเรีย ขัดขวางการสร้างกลูโคสซิกฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) ทำให้ไม่สามารถสะสมเป็นอินทราโพลีแซคคาไรด์ได้ ยับยั้งการสร้างกรดของแบคทีเรีย (Hamilton และ Ellwood, 1978) และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยพบว่าโซเดียมฟลูออไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ที่ความเข้มข้น300-600 ส่วนในล้านส่วน (Mayhew และ Brown, 1981) สแตนนัสฟลูออไรด์สามารถทำลายเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ที่ความเข้มข้น 600 ส่วนในล้านส่วน (White, Cox และ Gwynn, 1995)

การแปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์เป็นหนึ่งในมาตรการการป้องกันและส่งเสริมสุขภาพช่องปาก ซึ่งจัดว่าเป็นวิธีพื้นฐานในการดูแลสุขอนามัยส่วนบุคคลและเป็นวิธีการที่องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้เป็นกลวิธีหลักในการป้องกันฟันผุในทุกกลุ่มอายุ (Petersen และ Lenon, 2004) อย่างไรก็ดีการใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ทันตแพทย์ควรพิจารณาถึงปัจจัยหลายๆอย่างร่วมกัน ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถใช้ในเด็กอายุ 2-6 ปีได้ แต่จำเป็นต้องจำกัดปริมาณการใช้อย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้เกินระดับฟลูอไรด์ที่เด็กควรได้รับในแต่ละวัน (optimum fluoride level) การใช้ปริมาณฟลูออไรด์ที่มากเกินไประหว่างที่มีการสร้างเคลือบฟันโดยเฉพาะบริเวณฟันหน้าซึ่งเกี่ยวข้องกับความสวยงามมากที่สุด จะมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดฟันตกกระใน 3 ปีแรกของชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงเวลา 18-24 เดือน (Eugenio และ Susan, 1988 ; Burt, 1992 ; Holt, Nunn, Rock และคณะ, 1996)

การศึกษาของ Modesto, Lima และ Uzeda ในปี 2003 ถึงความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียบนแผ่นชีวภาพของยาสีฟันสำหรับเด็ก พบว่ายาสีฟันซึ่งมีส่วนผสมของฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับยาสีฟันที่มีส่วนประกอบของแลคโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) และแลกโตเฟอริน (lactoferrin) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำลายและยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสมุนไพรคาเลนดูลา (calendura) แต่ยังไม่มีการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเของยาสีฟันฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน

จากการสำรวจยาสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายภายในประเทศไทยของกองทันตสาธารณสุข กรมอนามัยปี 2547 พบว่ามีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในระดับ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนจึงเป็นที่น่าสนใจว่ายาสีฟันสำหรับเด็กที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้โรคฟันผุได้แตกต่างกันหรือไม่

คำถามของการวิจัย

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้แตกต่างจากยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1,000 ส่วนในล้านส่วน

สมมติฐานการวิจัย

1. ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน
2. ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน
3. ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1,000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ (laboratory experimental research)

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานแต่ละชนิดจากห้องปฏิบัติการนำมาทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1,000 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

ข้อตกลงเบื้องต้น

ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์นั้นเป็นการเปรียบเทียบจากพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่เชื้อแบคทีเรียขึ้นในจานเพาะเชื้อ

ข้อจำกัดของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เป็นการทดสอบเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่ได้อยู่รวมกันเป็นแผ่นชีวภาพ (biofilm) ซึ่งไม่เหมือนกับสภาวะช่องปากมนุษย์ทำให้ไม่สามารถนำผลไปอ้างอิงทางคลินิกได้โดยตรง

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ (cariogenic bacteria) เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุที่น่าสนใจและนำมาทำการศึกษาใน งานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

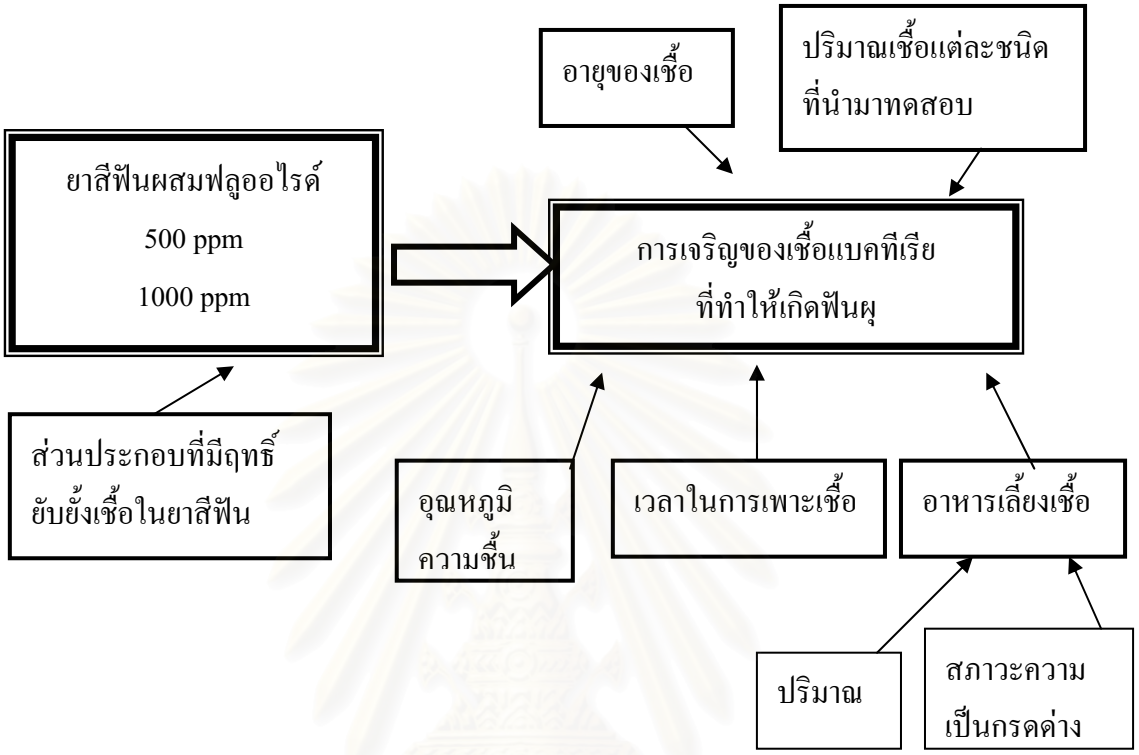
1. *สเตรปโตคอคไซด์คอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*)
2. *สเตรปโตคอคไซด์คอคคัส ซอบรินัส* (*Streptococcus sobrinus*)
3. *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* (*Lactobacillus casei*)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์สำหรับเด็กที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีปริมาณฟลูออไรด์ในระดับความเข้มข้น 500ส่วนในล้านส่วน และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน การศึกษาเปรียบเทียบยาสีฟันทั้งสองชนิดนี้เป็นการศึกษาเพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นส่วนหนึ่งเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันสำหรับเด็กต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ และเป็นข้อมูลประกอบการศึกษาการเลือกใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์สำหรับเด็กให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุ สำหรับผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคฟันผุในระดับต่างๆกัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุสูงเนื่องมาจากปัจจัยของเชื้อแบคทีเรีย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิยามของโรคฟันผุ คือโรคของฟันที่สามารถป้องกันได้ซึ่งเกิดจากหลายสาเหตุที่มีความเกี่ยวข้องกันระหว่างฟัน จุลชีพ และ อาหารจำพวกแป้งและน้ำตาลที่สามารถทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดของคราบจุลินทรีย์ได้ National Institute of health ให้คำจำกัดความของโรคฟันผุว่าเป็นโรคติดเชื้อที่สามารถติดต่อได้ ทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของฟันจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดจากสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ เป็นขบวนการที่เกิดขึ้นต่อเนื่องตลอดเวลา และก่อนการเกิดเป็นรอยโรคฟันผุ สามารถผันกลับได้ (Steinberg, 2002)

สาเหตุและกระบวนการเกิดโรคฟันผุ

กระบวนการเกิดฟันผุ เริ่มต้นจากการมีแผ่นคราบน้ำลาย (pellicle) ซึ่งมีหน้าที่ในการป้องกันผิวฟันจากการเสียดสีระหว่างการบดเคี้ยวซึ่งแผ่นคราบน้ำลายนั้นเกิดจากการดูดซับโปรตีน (mucinous protein) จากน้ำลายซึ่งไม่ละลายในช่องปาก มีความหนา 0.1-1 ไมครอน ซึ่งเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วหลังการแปรงฟันเมื่อฟันมีการสัมผัสกับน้ำลาย จากนั้นกระบวนการเกิดคราบจุลินทรีย์จะเริ่มจากการเกาะกลุ่มของแบคทีเรียในน้ำลาย (passive colonization) โดยแบคทีเรียจะยึดติดกับผิวฟันแน่นขึ้นโดยอาศัยแรงประจุไฟฟ้า (electrostatic hydrophobic) และแรงแวนเดอวาลส์ (van der Wahl) ต่อจากนั้นจะเกิดการยึดติดแบบถาวรโดยอาศัย adhesion factors บนผิวของแบคทีเรีย และ complementary receptors บนผิวของแผ่นคราบน้ำลาย ต่อจากนั้นจะเกิดการรวมกลุ่ม (co aggregation) และการยึดระหว่างเซลล์ (co adhesion) ของแบคทีเรียหลายชนิดและเพิ่มจำนวนขึ้นเกิดเป็นแผ่นชีวภาพ ซึ่งจะเกิดบริเวณพื้นผิวที่เป็นของแข็งที่มีการสัมผัสกับน้ำและอาหารอย่างเหมาะสมเท่านั้น นอกจากนี้การสร้างแมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูแคนและฟรุกแตนจากเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียจะได้ผลผลิตที่มีฤทธิ์เป็นกรด ระดับความเป็นกรดด่างลดลงจนเกิดการสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟัน ในขณะเดียวกันมีปัจจัยต่างๆในช่องปากที่สามารถทำให้ระดับความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นซึ่งส่งเสริมขบวนการคืนกลับของแร่ธาตุด้วย ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรดด่าง ได้แก่ อาหาร ฟลูออไรด์ และอัตราการหลั่งของน้ำลาย ถ้าอัตราการสูญเสียแร่ธาตุมากกว่าอัตราการคืนกลับของแร่ธาตุก็จะทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุเกิดเป็นรอยโรคฟันผุ (Kidd และ Fejerskov,2004)

ปัจจัยที่เป็นสาเหตุของการเกิดฟันผุ

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียในช่องปากอยู่เป็นแบบแผ่นชีวภาพ แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบได้แก่เชื้อแบคทีเรียกรัมบวกรูปกลม (gram positive coccal bacteria) และพบแบคทีเรียกรัมลบรูปแท่ง (gram negative rod) เชื้อส่วนมากที่พบบริเวณตัวฟัน เช่น*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*) *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส* (*Streptococcus sanguinis*) *แอคติโนมัยซิส วิสโคซุส* (*Actinomyces viscosus*) ส่วนเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซาไลวาเรียส* (*streptococcus salivarius*) *แอกติโนมัยซิส เนสลันดิไอ* (*Actinomyces naeslundii*) หรือเชื้อกรัมบวกรูปแท่ง (gram positive rod) เช่น แลคโตแบซิลไล มักพบบริเวณเยื่อบุช่องปากมากกว่า

ระยะแรกคราบจุลินทรีย์จะเกิดในรูปของแผ่นคราบน้ำลายที่ประกอบด้วยไกลโคโปรตีน ฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein) และไขมันที่พบในน้ำเหลืองเหงือก นอกจากนี้ยังพบผลิตผลของแบคทีเรียด้วย เช่น ยูโรซิลทรานสเฟอเรส (urosyl transferase) โดยมีหน้าที่หล่อลื่นผิวฟัน ป้องกันการสัมผัสโดยกรด ซึ่งเป็นบทบาทสำคัญในการเกิดการส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุ

การยึดเกาะของแบคทีเรียกับแผ่นคราบน้ำลาย (adhesion) ในระยะแรกเป็นแบบเฉพาะเจาะจง อาศัยปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวรับที่ผิวเซลล์แบคทีเรียที่เฉพาะเจาะจงกับโปรตีนในแผ่นคราบน้ำลาย โดยแบคทีเรียกลุ่มแรกที่เข้ามา (early colonizer) ได้แก่ *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส, สเตรปโตคอคคัส ออรัลลิส* (*Streptococcus oralis*), *สเตรปโตคอคคัส ไมติส (Streptococcus mitis)* และต่อมาจะเกิดสมดุลของแบคทีเรียขึ้น และจะไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ในคราบจุลินทรีย์ถ้าไม่พบสายพันธุ์นั้นมาก่อน (Seow, 1998)

คราบจุลินทรีย์เป็นแผ่นชีวภาพซึ่งจำกัดการแทรกซึมของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อและลดความเข้มข้นของเอนไซม์นอกเซลล์ทำให้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสามารถทำงานได้ลดลง แบคทีเรียที่อยู่รวมกันในแผ่นชีวภาพแต่ละสายพันธุ์บ้างก็ต่อต้านกันและส่งเสริมกัน แบคทีเรียบางส่วนจะหลุดออกไปและไปยึดเกาะบนผิวฟันที่อื่น โดยปกติการยึดเกาะอย่างหนาแน่น (heavy colonization) จะเกิดประมาณ 12-18 เดือนก่อนการตรวจพบรอยโรคจุดขาว (white spot lesion) ดังนั้นกระบวนการเกิดฟันผุต้องใช้เวลาเป็นเดือนและปี ซึ่งขึ้นอยู่กับการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุซ้ำๆและคงอยู่เป็นเวลานาน จากนั้นแบคทีเรียจะเข้าไปสู่ท่อเดนทีนและเกิดกรดทำลายเดนทีนอย่างรวดเร็ว การหยุดขบวนการเกิดฟันผุดังกล่าวคือการกำจัดคราบจุลินทรีย์หรือผนึกทับแบคทีเรียในรูผุนั้นไม่ให้สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นอาหาร (Kidd และ Fejerskov, 2004)

คุณสมบัติของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดฟันผุ

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดฟันผุต้องมีคุณสมบัติดังนี้ (Marsh, 1999)

- สามารถเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว ได้แก่ แบคทีเรียจำพวกมิวแทนส์สเตรปโตคอคไค แลคโตเบซิลไล และ แอคติโนมัยซิส
- มีความสามารถในการทนต่อกรด ได้แก่ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค แลคโตเบซิลไล
- สามารถสร้างเอกซ์ทราโพลีแซคคาไรด์ (extracellular polysaccharide)ได้แก่ กลูแคนที่ไม่สามารถละลายน้ำ ซึ่งมีบทบาทในการเกาะของเชื้อได้แก่ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส, สเตรปโตคอคคัส ไมติส, แอคติโนมัยซิส วิสโคซุส, แอกติโนมัยซิส เนสลันดิไอ*
- สามารถสะสมอินทราโพลีแซคคาไรด์ (intracellular polysaccharide) เพื่อนำมาใช้ผลิตกรดเมื่อขาดสารอาหารภายนอกได้แก่ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส, สเตรปโตคอคคัส ไมติส, แอคติโนมัยซิส วิสโคซุส, แลคโตเบซิลไล เคซิไอ*
- สามารถรักษาเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตได้ แม้ในสภาพแวดล้อมที่จำกัดได้แก่ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค

<u>การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างภายในคราบจุลินทรีย์</u>

ขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ จะสร้างผลิตภัณฑ์ที่เป็นทั้งกรดและด่าง ขึ้นกับอาหารที่รับประทานเข้าไป เชื้อมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคย่อยสลายน้ำตาลได้หลายชนิดสร้างเป็นกรดแลกติกโดยใช้เอนไซม์แลกเตต ดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) เปลี่ยนจากกรดโพรพริโอนิก (proprionic) ไปเป็นแลกเตต (lactate) ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างในคราบจุลินทรีย์ เมื่อมีการรับประทานน้ำตาลซูโครส ค่าความเป็นกรดด่างจะลดลงจากระดับความเป็นกรดด่างของคราบจุลินทรีย์ในระยะพัก 6.5 ไปเป็นระดับที่ต่ำกว่า 5.5 หลังจากนั้นจะมีการค่อยๆเพิ่มระดับความเป็นกรดด่างไปสู่ระดับระยะพัก ซึ่งเป็นผลจากการแพร่ของกรดจากคราบจุลินทรีย์ และ การปรับสภาวะเป็นกลางของกรดจากคราบจุลินทรีย์และน้ำลาย แต่ในสภาวะที่ขาดน้ำตาล แบคทีเรียจะสร้างกรดอินทรีย์เช่นฟอร์เมต (formate) อะซีเตต (acetate) และ เอทานอล (ethanol) แทน (Balakrishnan, Simmonds และ Tagg, 2000)

แบคทีเรียและผลิตภัณฑ์ที่เป็นด่างเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้ระดับความเป็นด่างในคราบจุลินทรีย์สูงขึ้น ด่างที่เกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียเป็นปัจจัยหนึ่งที่บ่งบอกถึงความสามารถในการทำให้เกิดฟันผุ คราบจุลินทรีย์ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ของแอมโมเนียซึ่งได้มาจากขบวนการสลายยูเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะที่เป็นกรด *สเตรปโตคอคคัส ซาไลวาเรียส* และ *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส*จะใช้เอนไซม์ยูรีเอส (urease) และอาร์จีนีนดีอะมีเนส (arginine

deaminase) ทำให้เกิดการสร้างแอมโมเนียและยูเรีย ส่งผลให้ระดับความเป็นด่างในคราบจุลินทรีย์สูงขึ้น (Hicks, Garcia-Godoy และ Flaitzc, 2003)

มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค

มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคเป็นเชื้อที่สามารถอยู่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและมีออกซิเจน (facultative anaerobe)อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกเชื้อนี้คือMSB (Mitis Salivalius Agar และ bacitracin) ลักษณะโคโลนีบน MSB เป็นโคโลนีทึบ นูนสูง รูปร่างขรุขระ การเพาะเลี้ยงใช้วิธีอบในบรรยากาศซึ่งมีไนโตรเจนร้อยละ 95 และ คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผนังเซลล์ของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคประกอบด้วยส่วนประกอบของแอนติเจนได้แก่ เปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) น้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ และ กรดไลโปทิโคอิก (lipoteichoic acid) แบ่งเป็น 8 ซีโรไทป์ (serotype) ตามความจำเพาะของคาร์โบไฮเดรตแอนติเจนที่อยู่บนผนังเซลล์ ดังนี้ (Whiley และคณะ, 1998)

- ซีโรไทป์ เอ ดี จี แอนติเจนประกอบด้วย กลูโคส กาแลกโตสและ แรมโนส
- ซีโรไทป์ซี อี เอฟ แอนติเจนประกอบด้วย กลูโคส และ แรมโนส
- ซีโรไทป์ บี แอนติเจนประกอบด้วย กาแลกโตสและ แรมโนส

แบ่งเป็นสปีชีส์ต่างๆ ดังนี้ (Whiley และคณะ, 1998)

- *S. mutans* (ซีโรไทป์ ซี อีและเอฟ) พบได้ในมนุษย์ ซีโรไทป์ซีพบได้มากที่สุด
- *S. sobrinus* (ซีโรไทป์ดี และ จี) พบได้ในมนุษย์ มักพบในฟันหลังมากกว่าฟันหน้า มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคฟันผุด้านผิวเรียบ (smooth surface caries)
- *S. cricetus* (ซีโรไทป์เอ) พบได้ในมนุษย์
- *S. rattus* (ซีโรไทป์บี) พบได้ในมนุษย์และสัตว์จำพวกที่ใช้ฟันแทะ (rodent)
- *S. ferus* (ซีโรไทป์ซี) พบได้ในหนู
- *S. macacae* (ซีโรไทป์ซี) พบได้ในลิง
- *S. downei* (ซีโรไทป์เอช) พบได้ในลิง

นอกจากนี้มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคยังแบ่งตามปฏิกิริยาของการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตได้เป็นชนิดต่างๆ (biotype) ส่วนใหญ่เชื้อย่อยสลายแมนนิทอลและซอร์บิทอลให้กรด

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่ากลุ่มของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดรอยโรคฟันผุเริ่มต้น คือเชื้อในกลุ่มมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคโดยมี*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*ที่พบในคราบจุลินทรีย์ได้บ่อยประมาณร้อยละ 90 และร้อยละ 8- 40 ตามลำดับ เด็กที่ดูดนมแม่และมีฟันผุลุกลามอย่างมากจะพบมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคในคราบจุลินทรีย์มากกว่าเด็กที่ไม่มีฟันผุ 100 เท่า เชื้อจากแม่และลูกจะเป็นซีโรไทป์เดียวกันและ*พบว่าสเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*มี

ความสามารถในการสร้างกรดและทำให้เกิดฟันผุได้มากกว่าเชื้อตัวอื่นๆ (Balakrishnan, Simmonds และ Tagg ,2000)

การยึดเกาะของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคในคราบจุลินทรีย์

การเกาะของเชื้อมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคต้องการพื้นผิวแข็งในการเกาะของเชื้อ แม้ในทารกที่ฟันน้ำนมยังไม่ขึ้นยังสามารถพบเชื้อได้ในทารกที่ใส่เพดานเทียม นอกจากนี้ยังพบว่าหลังถอนฟันออกไป มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคลดจำนวนลงเช่นเดียวกับเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส* ช่วงเวลาที่เชื้อจะเริ่มติดต่อเข้าสู่ช่องปาก (window of infectivity) คือช่วงเวลาอายุประมาณ 18-32 เดือน (Caufield, Cutter และ Dasanayake, 1993) ถ้าผ่านช่วงนี้ไปแล้วการเพิ่มการเกาะของเชื้อมักจะไม่เกิดขึ้นอีกจนกว่าฟันกรามซี่แรกจะขึ้น จำนวนของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้นและพบเชื้อจำนวนมากในพื้นผิวที่ขรุขระเช่น ผิวเคลือบฟันที่มีลักษณะอีนาเมลไฮโปเพลเชีย (Balakrishnan, Simmonds และTagg, 2000)

การเกาะของเชื้อมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคไม่กระจายโดยทั่วไปในตัวฟันทั้งซี่ พบมากในบางตำแหน่งของฟันและมักพบปริมาณของเชื้อสูงในตำแหน่งรอยโรคจุดขาว ส่วนบริเวณรอบรอยโรคห่างออกไปเพียง 1 – 2 มิลลิเมตรอาจไม่พบเชื้อเลย (Tanzer, 1995)

คุณสมบัติสำคัญของมิวแทนส์สเตรปโตคอกไค ที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ

ความสามารถในการยึดติดกับผิวเคลือบฟันโดยการสร้างเอกทราโพลีแซคคาไรด์

การยึดเกาะของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคมี 2 ระยะคือ (Seow, 1998)

- การยึดเกาะของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคในระยะแรกเป็นการจับแบบชั่วคราวและไม่อาศัยน้ำตาลซูโครส เป็นการจับระหว่าง ผิวเซลล์มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคจับกับโปรตีนแอดฮีซิน (adhesion) บนแผ่นคราบน้ำลาย เป็นปฏิสัมพันธ์โดยตรงของโปรตีนในน้ำลายในสภาวะที่ไม่มีซูโครสแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส* จะมีความจำเพาะต่อการจับแผ่นคราบน้ำลายบนผิวฟันสูงกว่ามิวแทนส์สเตรปโตคอคไค นอกจากนี้ในสภาวะแวดล้อมที่ขาดน้ำตาลมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคจะมีอินทราโพลีแซคคาไรด์สะสมในระดับต่ำและมีอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและสะสมของแบคทีเรียน้อย

- การยึดเกาะแบบถาวรโดยอาศัยน้ำตาลซูโครส ในขั้นตอนนี้อาศัยซูโครสในการเกาะติดของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคจะสร้างกลูแคนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (α1-3 linked) และโมเลกุลที่สามารถละลายน้ำได้ (α 1-6 linked) โดยใช้เอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (glucosyltransferase) ซึ่งกลูแคนจะจับกับเอนไซม์หรือตัวรับที่ผิว

เซลล์แบคทีเรีย (glucan binding protein) นอกจากนี้ซูโครสยังส่งเสริมให้เกิดการสร้างอินทราโพลีแซคคาไรด์ในมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคได้ซึ่งไม่เกิดในเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* กลูแคนนี้จะเพิ่มความหนาของคราบจุลินทรีย์ซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการแพร่ของน้ำตาลและการสร้างกรดในคราบจุลินทรีย์ชั้นที่ลึกลงไป

ความสามารถในการสร้างกรดและทนต่อกรด

เชื้อมิวแทนส์สเตรปโตคอคไค ย่อยสลายน้ำตาลได้หลายชนิดสร้างเป็นกรดแลกติกโดยใช้เอนไซม์แลคเตตดีไฮโดรจีเนส เปลี่ยนจากกรดโพรพิริโอนิกไปเป็น แลคเตต แต่ในสภาวะที่ขาดน้ำตาล เชื้อจะสร้าง ฟอร์เมต อะซีเตต และ เอทานอล *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* สามารถสร้างกรดได้ถึงความเป็นกรดด่างระดับ 3.9-4.1 ซึ่งต่ำกว่าระดับความเป็นกรดด่างวิกฤติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.5 โดยความสามารถในการปรับสภาวะความเป็นกรดของครบจุลินทรีย์มีมากกว่าในน้ำลาย และระดับการสะสมแคลเซียม ฟอสเฟต และฟลูออไรด์ มีมากกว่าในน้ำลายเช่นกัน (Seow,1998)

นอกจากนี้มิวแทนส์สเตรปโตคอกไคสร้างเอนไซม์เอทีพีเอสจำนวนมากซึ่งทำหน้าที่ในการขับไฮโดรเจนออกจากเซลล์เพื่อลดความเป็นกรดภายในเซลล์แบคทีเรียเมื่อต้องเจอกับสภาวะที่เป็นกรดจึงทำให้เชื้อมีความสามารถในการทนอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรดได้

ความสามารถในการสร้างอินทราโพลีแซคคาไรด์

ในสภาวะที่มีน้ำตาลซูโครสมากเกินพอมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคจะสร้างอินทราโพลีแซคคาไรด์ที่คล้ายกลูแคนซึ่งประกอบด้วย (α-1, 4 และ α-1 , 6 – glucosyl linkage) โดยอาศัยเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase)ในช่วงที่มีน้ำตาลน้อยมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคยังสามารถผลิตกรดได้โดยการใช้อินทราโพลีแซคคาไรด์ซึ่งช่วยทำให้มีการสร้างกรดอย่างต่อเนื่องแม้ในช่วงที่ไม่มีอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต

การสร้างเอนไซม์เดกซ์ทราเนส (dextranase)

เอนไซม์เดกซ์ทราเนสส่งเสริมให้เกิดการแทนที่ของกลุ่มเชื้อที่เกาะในระยะแรกด้วยมิวแทนส์สเตรปโตคอกไคโดยเอนไซม์เดกซ์ทราเนส ตัดสายα-1 , 6 ในเดกส์แทรน ช่วยให้แบคทีเรียสามารถเข้าไปในชั้นคราบจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระยะแรก ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่มายึดเกาะเป็นพวกแรกได้แก่ *สเตรปโตคอคคัส แซงกวินิส* และ*สเตรปโตคอคคัส ไมติส* (Clarkson, 1999)

แลคโตเบซิลไล

แลคโตแบซิลไลเป็นเชื้อที่มักพบบริเวณเยื่อบุข้างแก้ม มากกว่าร้อยละ 85 มักพบที่รอยโรคฟันผุ (Balakrishnan, Simmonds และ Tagg,2000) เชื้อชนิดนี้มีความสามารถเกาะบนตัวฟันน้อยกว่าเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* พบปริมาณเชื้อในคราบจุลินทรีย์บริเวณรอยโรคจุดขาวน้อย มีความสามารถในการผลิตกรดและทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูง นอกจากนี้จำนวนแลคโตแบซิลไลในคราบจุลินทรีย์และน้ำลายยังสัมพันธ์กับ caries activity จะพบเชื้อปริมาณมากในรอยโรคที่เป็นรูแล้ว ดังนั้นแลคโตแบซิลไลจึงมีบทบาทสำคัญในการดำเนินของรอยโรคมากกว่าบทบาทในการเริ่มต้นการเกิดรอยโรค ระดับของแลคโตแบซิลไลในน้ำลายจะแสดงถึงลักษณะการบริโภคคาร์โบไฮเดรต ไม่จำเพาะเพียงแต่การบริโภคซูโครสเท่านั้น

อาหาร

น้ำตาลส่วนใหญ่ที่เด็กได้รับได้แก่ ซูโครส กลูโคส และ ฟรุกโตสจากน้ำผลไม้ ขนม และอาหารต่างๆ ซูโครสเป็นน้ำตาลที่สำคัญที่สุดที่เกี่ยวข้องกับการเกิดฟันผุ เนื่องจากเป็นอาหารของแบคทีเรียในการสร้างเดกส์แทรนซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการใช้ยึดเกาะของแบคทีเรีย น้ำตาลอีกประเภทที่มีความสำคัญต่อการเกิดฟันผุคือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคส และฟรุกโตส ซึ่งพบได้ในผลไม้และน้ำผึ้ง ทำให้เกิดการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างได้ น้ำตาลฟรุกโตสสามารถทำให้เกิดฟันผุได้ใกล้เคียงกับน้ำตาลซูโครส น้ำตาลอื่นๆมีความสามารถในการทำให้เกิดฟันผุเช่นกันแต่ความสามารถน้อยกว่าน้ำตาลซูโครส

หลายการศึกษาพบว่า เด็กที่มีฟันผุลุกลามจะมีความถี่ในการบริโภคน้ำตาลสูง ทั้งอาหารและเครื่องดื่มซึ่งเป็นการเพิ่มความเป็นกรดของคราบจุลินทรีย์และส่งเสริมให้เกิดการตั้งถิ่นฐานของเชื้อที่ทนต่อสภาวะที่เป็นกรด เช่น มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค นอกจากนี้การเพิ่มระยะเวลาของฟันที่สัมผัสกับน้ำตาลจะทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมากขึ้น ทำให้ระยะเวลาในการเกิดกระบวนการคืนกลับของแร่ธาตุจากน้ำลายไม่เพียงพอ (Seow, 1998 ; Clarkson, 1999)

ตัวฟัน

ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการเกิดโรคได้แก่รูปร่าง ตำแหน่งของฟัน ส่วนประกอบและอายุของฟันหลังจากขึ้นมาในช่องปาก เคลือบฟันมีส่วนประกอบหลักของไฮดรอกซีอะพาไทท์ สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ต่างๆ ได้แก่คาร์บอเนต แร่ธาตุโซเดียม แมกนีเซียม โปแตสเซียม คลอรีน ฟลูออไรด์ โปรตีนและไขมัน ปัจจัยของสารอนินทรีย์ที่มีผลต่อความสามารถในการละลายของเคลือบฟันได้แก่ ขนาดและรูปร่างของคริสตัล ระยะห่างระหว่างคริสตัล ส่วนประกอบที่ต่างกันของโครงสร้างฟันซึ่งมีผลต่อความเสถียรของคริสตัล คริสตัลที่มีความเสถียรจะทนต่อการละลายเคลือบฟันได้มากกว่า คาร์บอเนตจะพบสัดส่วนมากในฟันที่เพิ่งขึ้น ความเสถียรของคริสตัลน้อย จึงทนต่อการละลายได้น้อย ส่วนฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปของฟลูออโรอะพาไทท์ เป็นรูปที่มีความเสถียรของคริสตัลสูง ทนต่อการละลายมาก (Dominick, 1999)

น้ำลาย

น้ำลายเป็นตัวหลักของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการเกิดฟันผุ มีบทบาทสำคัญต่อการชะล้างอาหาร ปรับสภาพความเป็นกรด และเป็นตัวกลางในการลดการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยมีส่วนประกอบโปรตีนที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ เช่น เอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) แลคโตเฟอริน เปอร์ออกซิเดส (lactoferrin peroxidase) แอกกลูตินิน (agglutinin) และฮีสทีดีนโปรตีน (histidine protein)

น้ำลายประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ที่ทำให้เกิดการตกตะกอนของเชื้อและส่งเสริมการกำจัดเชื้อ สารเหล่านั้นได้แก่ มิวซินไกลโคโปรตีน ไฟโบรเนคติน (fibronectin) และอิมโมโนโกลบูลินเอ(immunoglobulin A) โดยไกลโคโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะมีความจำเพาะสูงกับไฮดรอกซีอะพาไทท์ ส่งผลให้เชื้อเกาะกลุ่มกัน นอกจากนี้ยังมีโปรตีนในน้ำลาย เช่นไซอะลิน (sialin) ซึ่งถูกเมตาบอไลท์โดยแบคทีเรียทำให้สร้างแอมโมเนีย และเอมีนไปการเพิ่มระดับความเป็นกรดด่างในคราบจุลินทรีย์

ความสามารถในการปรับสภาวะความเป็นกรดด่างของน้ำลายเป็นผลมาจากกรดคาร์บอนิกและไบคาร์บอเนต ระยะที่มีการกระตุ้นการหลั่งของน้ำลายร่วมกับระบบฟอสเฟต และการย่อยสลายโปรตีนในระยะพักส่งผลให้ระดับความเป็นด่างสูงขึ้น (Hicks, Garcia-Godoy และ Flaitzc, 2003)

อัตราการไหลของน้ำลาย มีบทบาทสำคัญในการชะล้าง การปรับสภาพความเป็นกรด และการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นในช่วงเวลาที่เด็กหลับอัตราการไหลของน้ำลายจะต่ำ ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุมากขึ้น

ระบบภูมิคุ้มกัน

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีบทบาทในการป้องกันการเกิดฟันผุ ประกอบด้วย

- ระบบภูมิคุ้มกันจำเพาะจากน้ำลาย ได้แก่ อิมโมโนโกลบูลินเอ
- ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เช่นฟาโกไซท์ที่มาจากน้ำเหลืองเหงือก

แอนติบอดีต่อมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคเป็น อิมโมโนโกลบูลินจี ซึ่งพบในน้ำเหลืองเหงือกสามารถกระตุ้นระบบคอมพลีเมนท์(complement) และ ทำหน้าที่เหมือนออพโซนิน (opsonin) ในการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้เกิดการกลืนกินของเซลล์ ปริมาณน้ำเหลืองเหงือกจะเพิ่มขึ้นในระยะที่มีการขึ้นของฟัน บทบาทของแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงที่มีการเริ่มตั้งถิ่นฐานของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไค จะมีการเพิ่มขึ้นของอิมโมโนโกลบูลิน จี และระดับแอนติบอดี จะสัมพันธ์กับค่าดัชนีผุ อุด ถอนที่ต่ำและจำนวนที่ลดลงของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไค (Clarkson, 1999)

ปัจจุบันแนวคิดทางทันตกรรมได้เปลี่ยนวิธีการจัดการโรคฟันผุจากการทำการรักษาแบบหัตถการมาเป็นการจัดการทางทันตกรรมป้องกัน เนื่องจากโรคฟันผุเป็นโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ดังนั้นการรักษาแบบหัตถการจึงไม่มีประสิทธิภาพเนื่องจากเป็นการแก้ไขที่ปลายเหตุ โดยแบคทีเรียในช่องปากที่เป็นสาเหตุของการเกิดฟันผุยังคงไม่ได้ถูกกำจัดออกไป และกลับมาเกาะใหม่ที่ขอบของวัสดุบูรณะ ทำให้เกิดรอยโรคฟันผุใหม่อีก ดังนั้นแนวคิดใหม่ของการจัดการและการป้องกันฟันผุทำได้โดยการประเมินความเสี่ยงของคนไข้แต่ละคน ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุว่าแต่ละบุคคลมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้มากน้อยเพียงใด และให้การป้องกันและรักษาโรคที่เหมาะสมในแต่ละบุคคลในการประเมินความเสี่ยงจะพิจารณาถึงปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคฟันผุดังนี้ (Bratthal และ Peterson, 2005)

1. การเกิดโรคฟันผุในอดีต ปัจจัยนี้มีอิทธิพลอย่างมากในการทำนายการเกิดโรคฟันผุ คนที่มีการเกิดโรคฟันผุตั้งแต่ยังอายุน้อยมีแนวโน้มที่จะเกิดรอยโรคเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาไม่นาน
2. ปัจจัยทางด้านสังคมและเศรษฐกิจ พบว่ากลุ่มคนที่มีปัญหาทางด้านเศรษฐกิจและสังคมพบว่ามีอัตราการเกิดโรคฟันผุสูง พบความชุกของการเกิดฟันผุมาก พบฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันน้อย และพบฟันที่ไม่ได้รับการรักษามาก
3. ปัจจัยทางชีวภาพ มีหลายปัจจัย ได้แก่ปัจจัยที่รวมอยู่ในวงกลมทั้งสามของ Keyes ได้แก่
   3.1 แบคทีเรีย ประกอบด้วยเชื้อที่เข้ามากลุ่มแรกได้แก่มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคและกลุ่มที่เข้ามาภายหลัง ได้แก่แลคโตเบซิลไล ดังนั้นการตรวจในช่องปากจำเป็นที่จะต้องประเมินปริมาณเชื้อและองค์ประกอบของคราบจุลินทรีย์ด้วย
   3.2 อาหารประเภทน้ำตาลซึ่ง เป็นส่วนประกอบของอาหารหลักประจำวัน พบว่าการรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลจะมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวนฟันผุ พิจารณาถึงปริมาณและความถี่การบริโภคน้ำตาลและแป้ง ความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหาร ระยะเวลาที่ฟันสัมผัสกับน้ำตาลในช่องปาก
   3.3 ปัจจัยของผู้ป่วย ได้แก่
      - น้ำลาย อัตราการหลั่งของน้ำลาย ความสามารถในการปรับระดับความเป็นกรดด่าง ความสามารถในการฆ่าเชื้อ และส่วนประกอบต่างๆในน้ำลาย
      - ประวัติทางการแพทย์ เป็นปัจจัยต่อมีผลต่อความสามารถในการดูแลสุขภาพช่องปาก นอกจากนี้ยังมีผลกระทบต่อสภาพร่างกายของผู้ป่วยด้วย

ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคทั้งสามนั้นมีความสัมพันธ์กัน ปัจจัยทางชีวภาพเป็นปัจจัยโดยตรงของการเกิดโรคฟันผุ ส่วนปัจจัยทางสังคมและเศรษฐกิจมีผลกระทบอย่างมากต่อปัจจัยทางชีวภาพ ทั้งยังสามารถนำไปอธิบายลักษณะการบริโภค การดูแลสุขภาพช่องปากของผู้ป่วยด้วย

ฟลูออไรด์

ฟลูออไรด์เป็นรูปเกลืออิออนของธาตุฟลูออรีนเป็นธาตุในกลุ่มฮาโลเจน ซึ่งมีประจุไฟฟ้าเป็นลบ และมีอำนาจในการทำปฏิกิริยาสูงสุด ในธรรมชาติจึงไม่พบฟลูอรีนในรูปอิสระ แต่มักพบในรูปสารประกอบ เช่น ฟลูออโรอะพาไทท์ ซึ่งพบได้ในอาหารและน้ำดื่ม เป็นต้น ฟลูออไรด์เริ่มนำมาใช้ในการป้องกันฟันผุครั้งแรกในปี ค.ศ.1874 ปี และ ในปีค.ศ.1901 Dr. Frederick McKay พบความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออไรด์กับผิวเคลือบฟันครั้งแรก โดยได้สังเกตผิวเคลือบฟันของคนไข้เป็นคราบสีน้ำตาล และพบว่ามีความต้านทานสูงต่อการเกิดฟันผุ ต่อมาปี ค.ศ. 1930 นักวิทยาศาสตร์พบว่ามีฟลูออไรด์ในน้ำดื่มทำให้เกิด ฟันตกกระและตั้งชื่อว่า “ dental fluorosis ” และจากการศึกษาน้ำดื่มในชุมชนนั้นมีระดับฟลูออไรด์ 1ส่วนในล้านส่วนซึ่งจะทำให้เกิด ฟันตกกระและมีอัตราการเกิดฟันผุ ลดลง ต่อมาฟลูออไรด์จึงได้รับการยอมรับว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคฟันและมีความพยายามที่จะนำฟลูออไรด์มาใช้ในกระบวนการป้องกันโรคฟันผุอย่างแพร่หลาย

<u>การดูดซึมของฟลูออไรด์ในระบบร่างกาย</u>

ฟลูออไรด์อยู่ในรูปของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ฟลูออไรด์ที่มาจากสารอนินทรีย์มีทั้งประเภทที่ละลายน้ำได้ เช่นโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF), โซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต (Na_2PO_3F) ประเภทที่ละลายน้ำได้น้อยเช่น แคลเซียมฟลูออไรด์ (CaF_2) โดยฟลูออไรด์อิออนซึ่งมีความสำคัญในการทำปฏิกิริยาจะถูกปล่อยออกมามากน้อยโดยขึ้นกับความสามารถในการละลายของสาร

การดูดซึมฟลูออไรด์หลักคือผ่านทางเดินอาหาร ประมาณร้อยละ 75-90 ของฟลูออไรด์ถูกดูดซึมโดยระบบทางเดินอาหาร ฟลูออไรด์จะสามารถดูดซึมได้เร็วและสมบูรณ์ในเวลา 30 นาที การดูดซึมของฟลูออไรด์จะลดลงหากรับประทานร่วมกับอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีสารหรือมีคุณสมบัติในการรวมตัวกับฟลูออไรด์แล้วเกิดเป็นสารประกอบที่ละลายได้ยากเช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และอลูมิเนียม ซึ่งจะส่งผลให้ระดับฟลูออไรด์ในพลาสมาขึ้นถึงระดับสูงสุดได้ช้าลง และมีระดับลดลงด้วย ปริมาณที่ถูกดูดซึมนั้นไม่ขึ้นกับปริมาณฟลูออไรด์ที่ได้รับ ฟลูออไรด์ดูดซึมมากที่สุดที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยถูกดูดซึมในรูปของไฮโดรเจนฟลูออไรด์ โดยปฏิกิริยา $H^+ + F^- <- ->HF$ มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 4–10 ชั่วโมงในพลาสมา ไม่สะสมในเนื้อเยื่ออ่อนแต่สะสมในเนื้อเยื่อแข็ง เช่น กระดูกและฟัน การกระจายของฟลูออไรด์จะไม่สม่ำเสมอในเคลือบฟัน โดย

พบปริมาณฟลูออไรด์สูงสุดที่ส่วนรอยต่อชั้นโอดอนโตบลาส ซึ่งได้รับฟลูออไรด์มาจากทางกระแสเลือด ในฟันยังไม่ได้ขึ้นมาในช่องปากหรือฟันที่เพิ่งขึ้นเคลือบฟันจะมีลักษณะพรุนอยู่ จำเป็นต้องได้รับฟลูออไรด์ซึ่งการซึมผ่านของฟลูออไรด์ในเคลือบฟันที่มีลักษณะพรุนจะเร็วกว่าในเคลือบฟันที่มีการสะสมแร่ธาตุอิ่มตัวแล้ว

ฟลูออไรด์สะสมในร่างกายของมนุษย์ในกระดูกและฟัน โดยจะมีปริมาณฟลูออไรด์มากน้อยเพียงใดจะขึ้นอยู่กับการจับของฟลูออไรด์กับอะพาไทท์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกและฟัน ส่วนฟลูออไรด์ที่อยู่ในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนและของเหลวต่างๆภายในร่างกายนั้นมีปริมาณเพียงเล็กน้อย และมีค่าไม่แน่นอน

ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในคราบจุลินทรีย์นั้นแตกต่างกันไปตามอาหารและน้ำดื่มที่มีฟลูออไรด์เป็นส่วนประกอบ ความเป็นกรดด่างของสิ่งแวดล้อม การใช้ฟลูออไรด์เฉพาะที่และปริมาณฟลูออไรด์ในผิวเคลือบฟัน โดยพบปริมาณฟลูออไรด์ในคราบจุลินทรีย์และน้ำลายในคนที่แปรงฟันโดยใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์มากเป็น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ใช้ยาสีฟันไม่ผสมฟลูออไรด์ (Lynch และคณะ, 2004)

ฟลูออไรด์ในคราบจุลินทรีย์มีปริมาณ 25-50 ส่วนในล้านส่วนในแผ่นคราบจุลินทรีย์แห้ง และ5-10 ส่วนในล้านส่วนในแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่รวมน้ำหนักของน้ำแล้ว ซึ่งปริมาณฟลูออไรด์ในแผ่นคราบจุลินทรีย์นี้มีมากกว่า 70-250 เท่าที่พบในน้ำลาย ประมาณร้อยละ 5 เป็นฟลูออไรด์อิสระ ส่วนที่เหลือเป็นฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบประมาณร้อยละ 95 ซึ่งสามารถสกัดออกมาโดยใช้กรดเพอร์คลอริก 0.5 โมลต่อลิตร (Iatevossian,1990)

กลไกการทำงานของฟลูออไรด์

1. ลดการละลายของเคลือบฟัน (Reduce enamel solubility)

เมื่อร่างกายได้รับฟลูออไรด์เฉพาะที่หรือทางระบบ ฟลูออไรด์อิออนจะไปแทนที่ไฮดรอกซิล อิออนในผลึกอะพาไทท์กลายเป็นผลึกฟลูออโรอะพาไทท์ ซึ่งมีโมเลกุลที่เสถียรกว่าผลึกไฮดรอกซิล อะพาไทท์ทำให้ผลึกมีขนาดใหญ่และแข็งแรงขึ้นทนทานต่อกรด ลดการละลายของผิวเคลือบฟัน

2. ยับยั้งการละลายแร่ธาตุและส่งเสริมกระบวนการสะสมแร่ธาตุคืนกลับของผิวเคลือบฟัน (inhibit demineralization and promote remineralization)

ในผิวเคลือบฟันปกติจะมีการสูญเสียฟลูออไรด์ไปตลอดเวลาเนื่องจากการละลายของสารประกอบแคลเซียมฟลูออไรด์ การที่มีฟลูออไรด์สะสมอยู่ในช่องปากตลอดเวลาจะเป็นแหล่งของฟลูออไรด์ที่จะช่วยส่งเสริมในการสร้างแคลเซียมฟลูออไรด์

ในเคลือบฟันที่มีรอยผุนั้น ผิวเคลือบฟันจะมีลักษณะเป็รรูพรุนใหญ่และมีความสามารถให้การผ่านเข้าออกของสารสูงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยา

สารประกอบฟลูออโรอะพาไทท์เป็นแหล่งของสารละลายฟลูออไรด์ในขณะที่มีการละลายของแร่ธาตุในสภาวะที่เป็นกรดแต่ในสภาวะที่เป็นกลางความสามารถในการละลายจะต่ำในขณะที่แคลเซียมฟลูออไรด์สามารถเป็นแหล่งให้สารละลายฟลูอไรด์ได้ทั้งในสภาวะที่เป็นกรดและในสภาวะที่เป็นด่าง

สารประกอบแคลเซียมฟลูออไรด์เกิดเมื่อมีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500-1000 ส่วนในล้านส่วนหรือ 26.3- 52.6 มิลลิโมลต่อลิตรในสภาวะที่เป็นกลาง แต่ในสภาวะที่เป็นกรดจะเกิดสารประกอบนี้เมื่อมีฟลูออไรด์เพียง 10-100 ส่วนในล้านส่วน ทั้งสารประกอบฟลูออโรอะพาไทท์และแคลเซียมฟลูออไรด์สามารถลดการละลายของแร่ธาตุผ่านการปล่อยฟลูออไรด์ในสภาวะที่เป็นกรดในสารละลาย (White และ Nancolas, 1990)

สารละลายฟลูออไรด์ความเข้มข้นเพียง 0.01 -1 ส่วนในล้านส่วนสามารถลดการละลายของเคลือบฟันได้เมื่อทำการทดลองติดชิ้นฟันไปผ่านขบวนการปรับสภาวะให้เหมือนกับช่องปาก (pH cycling) ฟลูออไรด์ความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการละลายของเคลือบฟันได้ที่ระดับความเป็นกรดด่าง 4.3 – 4.5 (Lynch และคณะ, 2004)

3. รบกวนเมตตาบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ (disturb bacteria metabolism) โดยจะยับยั้งเอนไซม์อีโนเลส (enolase) ของแบคทีเรียทำให้เมตตาบอลึซึมในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์นำกลูโคสไปย่อยสลายได้ช้าลง จึงส่งผลให้ผลิตกรดแลคติกลดลงด้วย

บทบาทของฟลูออไรด์ต่อเชื้อจุลชีพ

ฟลูออไรด์สามารถยับยั้งขบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเช่นผ่านทางขบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) หลักฐานในปัจจุบันพบว่าฟลูออไรด์มีผลกระทบต่อเซลล์แบคทีเรียทั้งในทางตรงและทางอ้อม กล่าวคือยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียและเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียเช่น ลดสภาวะที่เป็นกรดในแผ่นชีวภาพ (Bradhaw และคณะ, 2002)

ฟลูออไรด์ปริมาณเพียงเล็กน้อยในช่องปากสามารถยับยั้งเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียได้หลายประการเช่น การรบกวนการทำงานของเอนไซม์ อีโนเลส กลูโคซิลทราสเฟอเรส (glucosyltransferase) โปรตอนเอกทรูดิง-เอทีพีเอส (proton-extruding ATPase) และรบกวนการสร้างอินทราโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น (Hicks, Garcia-Godoy และ Flaitzc, 2003)

เนื่องจากฟลูออไรด์มีคุณสมบัติไวต่อการทำปฏิกิริยาจึงจับกับโมเลกุลต่างๆเช่นโปรตีน แมทริกซ์ ไซโตพลาสมิกเอนไซม์ ส่วนประกอบของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ฟลูออไรด์ในเซลล์ของแบคทีเรียส่วนมากพบในในไซโตพลาสซึม ส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารประกอบ ส่วนฟลูออไรด์ที่อยู่นอกเซลล์แบคทีเรียปรากฏอยู่ในคราบจุลินทรีย์อยู่ในรูปของแคลเซียมฟลูออไรด์ (White และ Nancollas, 1990)

<u>การซึมผ่านของฟลูออไรด์เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย</u>

ฟลูออไรด์มีคุณสมบัติไวต่อการทำปฏิกิริยาจึงจับกับโมเลกุลแบบสุ่มและไม่เฉพาะเจาะจง การจับของฟลูออไรด์มีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของแบคทีเรีย อย่างไรก็ดีการจับของฟลูออไรด์ในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ไม่ได้มีความสัมพันธ์กันกับความทนทานของเชื้อแบคทีเรีย (Hamilton และ Bowden , 1996)

การผ่านของฟลูออไรด์เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียไม่เกี่ยวข้องกับขบวนการส่งผ่านโดยใช้พลังงาน (energy dependent active transport) การผ่านของฟลูออไรด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดภายนอกสูงขึ้น แสดงถึงคุณสมบัติความเป็นกรดอ่อนในการซึมผ่านเซลล์ในรูปของโฮโดรเจนฟลูออไรด์ (HF) ระหว่างขบวนการย่อยสลายคาร์ไฮเดรต ค่าความเป็นกรดภายนอกเซลล์จะสูงขึ้นเนื่องจากการสร้างกรดจากแบคทีเรียเช่น มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค ภายในเซลล์ของแบคทีเรียจะมีการรักษาระดับความเป็นกรดให้น้อยกว่าภายนอกเซลล์ ความแตกต่างของระดับความเป็นกรดด่างภายในเซลล์และนอกเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อภายนอกเซลล์มีความเป็นกรดสูง ฟลูออไรด์จะสะสมในเซลล์ของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นและความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อฟลูออไรด์จะเพิ่มขึ้น 3- 50 เท่า เมื่อระดับความเป็นกรดด่างลดลงจาก ค่าความเป็นกรดด่างระดับ 7 เป็นค่าความเป็นกรดด่างระดับ 5 และเชื้อแบคทีเรียที่มีความทนต่อฟลูออไรด์เช่น*แลคโตเบซิลลัส เคซิไอ* จะพยายามรักษาระดับความแตกต่างของค่าความเป็นกรดด่างภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ให้น้อยลง เมื่อระดับค่าความเป็นกรดด่างระดับภายนอกเซลล์ลดลงจาก 5 ในขณะที่เชื้อจุลชีพที่มีความไวต่อฟลูออไรด์สูงเช่น มิวแทนส์สเตรปโตคอคไคจะเพิ่มความระดับความเป็นกรดด่างเมื่อระดับความเป็นกรดด่างภายนอกเซลล์ลดลงจากระดับ 7 (Bradhaw และคณะ, 2002)

การผ่านของไฮโดรเจนฟลูออไรด์เข้าไปในไซโตพลาสซึมจะผ่านเข้าไปในบริเวณที่มีสภาวะเป็นด่างมากกว่าจนความเข้มข้นของไฮโดรเจนฟลูออไรภายในเซลล์และภายนอกเซลล์มีค่าเท่ากัน ภายในเซลล์สารประกอบไฮโดรเจนฟลูออไรด์จะแตกตัวเป็นฟลูออไรด์อิออนและไฮโดรเจนอิออน ฟลูออไรด์อิออนจะมีผลในการยับยั้งเอนไซม์และทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์ ผลของการแตกตัวของไฮโดรเจนฟลูออไรด์จะได้โปรตอน ซึ่งจะทำให้เกิดความ

เป็นกรดภายในไซโตพลาสซึมโดยปกติแล้วโปรตอนจะถูกนำเข้าเซลล์โดยเยื่อหุ้มเซลล์โดยขบวนการโปรตอนเอกทรูดิง เอทีพีเอส และผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดการเพิ่มระดับความเป็นกรดดังกล่าวทำให้สภาวะแวดล้อมภายในเซลล์ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นหลายชนิด (Hamilton และ Bowden , 1996)

ผลของฟลูออไรด์ต่อเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย

ผลต่อกระบวนการไกลโคไลซิส

ฟลูออไรด์มีผลต่อเอนไซม์อีโนเลสซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน ฟอสฟอกลีเซอเรต (2-P-glycerate) เป็นฟอสฟออีนอลไพรูเวต (P-enolpyruvate) ในขบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งเอนไซม์อีโนเลสนี้ต้องการแมกนีเซียมและสารประกอบฟลูออไรด์ ฟอสเฟตและแมกนีเซียม ผลดังกล่าวทำให้เซลล์ได้รับพลังงานเอทีพี ลดลง (Cimasoni, 1972 ; Marquis, 1990)

การขนส่งน้ำตาลกลูโคส

การสร้างตัวกลางของขบวนการไกลโคไลซิส คือกลูโคสซิกฟอสเฟต (glucose-6-P) ถูกยับยั้งโดยฟลูออไรด์ ผ่านทางระบบการส่งผ่านฟอสเฟต (phosphotransferase)

Glucose + PEP ------> Glucose-6-P + Pyruvate

ขบวนการนี้ถูกยับยั้งการสร้างกลูโคสซิกฟอสเฟตเนื่องมาจากการขาดการเติมฟอสเฟตจากฟอสฟออีนอลไพรูเวตต่อเนื่องมาจากการยับยั้งเอนไซม์อีโนเลส (Marquis, 1990 ; จีรศักดิ์, 2527)

บทบาทของฟลูออไรด์ในการยับยั้งการสร้างกรด

ฟลูออไรด์ความเข้มข้นน้อยกว่า 1 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการสร้างกรดได้ (จีรศักดิ์, 2527) โดยระดับความเป็นกรดด่างมีผลต่อการยับยั้งเมตาบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสในเซลล์แบคทีเรีย พบว่าที่ระดับความเป็นกรดด่าง 5.5 สามารถยับยั้งการย่อยสลายกลูโคสได้โดยสมบูรณ์เมื่อใช้ฟลูออไรด์ความเข้มข้นน้อยกว่าระดับความเป็นกรดด่าง 7 ถึง 10-12 เท่า เช่นที่ระดับความเป็นกรดด่าง 7 ฟลูออไรด์จะยับยั้งการย่อยสลายกลูโคสได้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในขณะที่ระดับความเป็นกรดด่าง 5.5 ฟลูออไรด์เพียง 0.8 มิลลิโมลาร์ หรือ 15.2 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งการย่อยสลายกลูโคสได้เท่ากัน ดังนั้นแบคทีเรียที่สร้างกรดเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีฟลูออไรด์จะมีการยับยั้งเมตาบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสได้มากกว่าในสภาวะที่เป็นด่าง (Hamilton และ Ellwood , 1978 ; จีรศักดิ์, 2529)

จากการศึกษาของธีรศักดิ์และคณะ ในปีพ.ศ. 2529 เปรียบเทียบการสร้างกรดแลคติกในช่องปากหลังจากรับประทานน้ำตาลและบ้วนด้วยสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

พบว่าโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถลดการสร้างกรดได้ถึงร้อยละ 59.6 การลดลงของกรดแลกติกแปรผันตามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ กรดแลคติกที่สร้างขึ้นนอกจากจะทำให้เคลือบฟันละลายตัวยังไปสลายคราบจุลินทรีย์ทำให้ฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนแตกตัวเป็นฟลูออไรด์อิสระไปส่งเสริมขบวนการคืนกลับของแร่ธาตุต่อไป

การศึกษาของ Ewemerในปี ค.ศ. 1957 พบว่าแบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตคอคไค และแลคโตเบซิลไล จะลดความสามารถในการผลิตกรดเมื่อสัมผัสกับผิวเคลือบฟันที่มีฟลูออไรด์หรือฟลูออโรอะพาไทท์ และในปี 2001 Balzar, Linder และ Sund ศึกษาของผลของฟลูออไรด์ต่อคาร์โบไฮเดรต เมตาบอลิซึม ของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไคโดยดูจากแผ่นชีวภาพบนผลึกไฮดรอกซีอะพาไทท์และประเมินถึงผลของฟลูออไรด์ที่จับกับไฮดรอกซีอะพาไทท์ซึ่งมีผลต่อการสร้างกรดแลคติกของ มิวแทนส์สเตรปโตคอคไค พบว่าที่ระดับความเป็นกรดด่างระดับ 7 มีการลดการสร้างกรดแลคติกและสัมพันธ์กับการยับยั้งการสร้างแผ่นชีวภาพของมิวแทนส์สเตรปโตคอคไค โดยมีผลที่ระดับฟลูออไรด์ความเข้มข้นสูงคือ มากกว่า 10 มิลลิโมลขึ้นไปถ้าในระดับความเข้มข้นต่ำกว่านี้แล้วอัตราการสร้างกรดแลกติกและการเกิด แผ่นชีวภาพไม่มีความแตกต่างกัน

ฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้นต่ำเพียง 10 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งการสร้างกรดและทำให้ค่าของความเป็นกรดด่างในคราบจุลินทรีย์ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ (Bowden,1990 ; Bradhaw และคณะ, 2002) นอกจากนี้พบว่าการใช้ฟลูออไรด์อย่าสม่ำเสมอทุกวันจะมีผลในการลดความเป็นกรดของคราบจุลินทรีย์ได้นานถึง 8- 12 ชั่วโมง (Van Loveren,1990)

<u>บทบาทของฟลูออไรด์ในการลดความต้านทานต่อกรดของแบคทีเรีย</u>

ขบวนการโปรตอนเอกทรูดิงเอทีพีเอส

แบคทีเรียสเตรปโตคอคไคมีกลไกในการรักษาระดับความเป็นกรดด่างภายในไซโตพลาสซึมโดยการนำโปรตอนออกจากเซลล์ผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านขบวนการโปรตอนเอกทรูดิงเอทีพีเอส ซึ่งใช้พลังงานเอทีพี และการไหลออก (efflux) ของผลิตภัณฑ์ที่คุณสมบัติเป็นกรด เช่นกรดแลกติก เอนไซม์นี้มีบทบาทในการทำให้แบคทีเรียสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตมาสร้างเป็นพลังงานได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรด

โปรตอนเอกทรูดิงเอทีพีเอส เกิดขึ้นเมื่อมีความแตกต่างของระดับความเป็นกรดด่างระหว่างภายในและภายนอกไซโตพลาสซึม ทำให้เกิดพลังงานที่เกิดจากความแตกต่างของประจุไฟฟ้าทางเคมีที่เรียกว่าแรงโปรตอนโมทีฟ (proton motive force ;PMF) ซึ่งสามารถนำมาสร้างเป็นพลังงานเอทีพี เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่และการส่งผ่านของสารละลาย แรงโปรตอนโมทีฟนี้เกิดจากการเคลื่อนที่ของโปรตอนจากที่มีความเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ

ฟลูออไรด์สามารถยับยั้งโปรตอนเอกทรูดิงเอทีพีเอสทำให้ไม่สามารถนำโปรตอนออกไปนอกเซลล์ได้ทำให้สภาวะความเป็นกรดภายในเซลล์สูง นอกจากนี้ผลของฟลูออไรด์ที่ยับยั้งขบวนการไกลโคไลซิสทำให้พลังงานเอทีพีลดน้อยลงและไม่สามารถนำมาใช้ในขบวนการโปรตอนเอกทรูดิง เอทีพีเอส นี้ด้วยเช่นกัน (Eisenberg, Bender และ Marquis, 1980 ; Marquis, 1990)

<u>บทบาทของฟลูออไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย</u>

การศึกษาของ Mayhew และ Brown ในปี ค.ศ. 1981ในห้องปฏิบัติการเพื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* พบว่าโซเดียมฟลูออไรด์ยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้น 300-600 ส่วนในล้านส่วนในขณะที่สแตนนัสฟลูออไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้น 75 ส่วนในล้านส่วน และสามารถทำลายเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 600 ส่วนในล้านส่วนที่ค่าความเป็นกรดด่างระดับ 5.9 (White, Cox และ Gwynn, 1995)

<u>บทบาทของฟลูออไรด์ต่อการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย</u>

การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม สเตรปโตคอคไคถูกกำจัดได้ด้วยฟลูออไรด์ความเข้มข้น 0.16-0.31โมลต่อลิตร หรือเท่ากับความเข้มข้น 3040- 5890 ส่วนในล้านส่วน (Maltz และ Emilson, 1982) ส่วนแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกันเป็นระบบนิเวศต้องใช้ฟลูอไรด์ความเข้มข้นสูงกว่าในการกำจัด และ การศึกษาของ Beighton และ Mcdougall ในปี 1977 พบว่าฟลูออไรด์ความเข้มข้นสูงสามารถลดจำนวนของ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ สเตรปโตคอคคัสแซงกวินิส และแอคติโนมัยซิส วิสโคซุส*ในคราบจุลินทรีย์ได้

<u>บทบาทของฟลูออไรด์ต่อการสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ของเซลล์แบคทีเรีย</u>

ฟลูออไรด์มีผลต่อการสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ของเซลล์แบคทีเรียที่จำเป็นสำหรับการสร้างโปรตีนเพื่อใช้ในการแบ่งเซลล์เช่น ฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 1-2 มิลลิโมล สามารถยับยั้งการซึมผ่านของกลีเซอรอลเพื่อเปลี่ยนไปเป็นกรดไลโปไทโคอิก (lipoteichoic acid) ซึ่งมีบทบาทในการคงสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ของ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* โดยควบคุมการผ่านเข้าออกของประจุบวกบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์และมีบทบาทต่อการเกาะของเชื้อบนไฮดรอกซีอะพาไทท์

ฟลูออไรด์มีผลต่อการหมุนเวียนของเปปทิโดไกลแคนของแบคทีเรียสเตรปโตคอคไคและแบซิลไล ทำให้มีผลลดอัตราการสร้างโมเลกุลนี้ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย

ฟลูออไรด์สามารถยับยั้งเอนไซม์ที่จำเป็นของแบคทีเรียหลายชนิดได้แก่ เอนไซม์ฟอสฟาเทส(phosphatase)ไพโรฟอสฟาเทส (pyrophosphatase) และฟอสฟอไลเรส(phospholyrase) ซึ่งอาศัยแมกนีเซียมเร่งปฏิกิริยา เอนไซม์เหล่านี้มีความไวต่อฟลูออไรด์ และค่าความเป็นกรดด่าง เช่น เอนไซม์ฟอสฟาเทสของ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*ทำหน้าที่ในการย่อยสลายฟอสเฟตแมทริกซ์ของผิวเคลือบฟันในขบวนการละลายแร่ธาตุของผิวเคลือบฟัน โดยการดึงฟอสเฟตออกจากเคลือบฟันเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียที่เกาะบนผิวเคลือบฟัน ในสภาวะที่มีฟลูออไรด์การทำงานของเอนไซม์จะถูกยับยั้งเป็นผลให้ฟอสเฟตไหลออกนอกเซลล์แบคทีเรียและไปส่งเสริมขบวนการคืนกลับของแร่ธาตุต่อไป (Hamilton และ Bowden, 1996)

<u>การปรับตัวของแบคทีเรียต่อฟลูออไรด์</u>

แบคทีเรียในช่องปากสามารถปรับตัวโดยการเจริญข้ามสายพันธุ์ที่มีการปรับเมตาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรีย อันเป็นผลให้สายพันธุ์ดังกล่าวลดความสามารถในการทำให้เกิดฟันผุ

การเปลี่ยนแปลงฟีโนไทป์ของแบคทีเรียเป็นการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีฟลูออไรด์ สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีความทนต่อฟลูออไรด์สามารถดำรงชีวิตอยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีฟลูออไรด์ได้ในระบบนิเวศของแบคทีเรีย (Bowden, 1990) การเจริญข้ามสายพันธุ์ของแบคทีเรียนี้เกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรียสัมผัสกับสภาวะแวดล้อมที่มีฟลูออไรด์อย่างต่อเนื่อง การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่สเตรปโตคอคไคสายพันธุ์ที่ทนทานต่อฟลูออไรด์จะมีความสามารถผลิตกรดในระดับต่ำซึ่งไม่มีผลในการทำให้เกิดการละลายของผิวเคลือบฟันได้ (Van Loveren และคณะ, 1989; Balakrishnan, Simmonds และ Tagg, 2000)

การใช้ฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุ

1. การใช้ฟลูออไรด์ทางระบบ (systemic fluoride)

ผลของฟลูออไรด์ได้จากการกลืนฟลูออไรด์เข้าไป ทำให้เกิดการดูดซึมในกระแสเลือดซึ่งจะมีผลต่อฟันที่กำลังสร้าง และฟันที่ขึ้นมาในช่องปากแล้ว ผลต่อฟันที่ขึ้นมาในช่องปากเกิดจากการสัมผัสฟลูออไรด์ก่อนที่จะกลืนและการหลั่งฟลูออไรด์ในน้ำลาย

1.1 การเติมฟลูออไรด์ในน้ำดื่ม (water fluoridation)

1.2 การเติมฟลูออไรด์ลงในนม (milk fluoridation)

1.3 ฟลูออไรด์เสริม ทั้งชนิดเม็ดและน้ำ (supplemental fluoride)

2. การใช้ฟลูออไรด์เฉพาะที่ (Topical fluoride)

ผลของฟลูออไรด์เกิดจากการที่ฟลูออไรด์สัมผัสกับฟันที่ขึ้นมาแล้วในช่องปากโดยตรงโดยไม่มีการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด

2.1 ฟลูออไรด์เฉพาะที่ที่ใช้โดยทันตแพทย์ (professionally applied topical fluoride)
ได้แก่ ฟลูออไรด์เจลเฉพาะที่ ฟลูอไรด์โฟม สารละลายฟลูออไรด์ ฟลูออไรด์วานิช

2.2 ฟลูออไรด์เฉพาะที่ที่ใช้ด้วยตนเอง (self applied topical fluoride)
ได้แก่ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ น้ำยาบ้วนปากผสมฟลูออไรด์ ฟลูออไรด์เจลที่ใช้ด้วยตนเอง)

การศึกษาฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุในปัจจุบันนี้เปลี่ยนแปลงจากความสนใจเรื่องฟลูออไรด์ในน้ำดื่มมาเป็นฟลูออไรด์ในรูปแบบอื่นๆ เช่น ยาสีฟันฟลูออไรด์ น้ำยาบ้วนปากฟลูออไรด์ การใส่ฟลูออไรด์ในนมและเกลือ จากการทบทวนงานวิจัยที่ผ่านมาของ UK University of York Centre และ Cochrane collaboration oral health group สรุปว่า ฟลูออไรด์ในน้ำดื่มลดความชุกของการเกิดฟันผุได้ร้อยละ15 ส่วนการใช้ยาสีฟันฟลูออไรด์ สามารถลดการเกิดฟันผุได้ร้อยละ 24-26 นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในประเทศที่กำลังพัฒนา (Petersen และ Lennon ,2004)

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์เป็นผลิตภัณฑ์อยู่ภายใต้การควบคุมขององค์การอาหารและยา มีส่วนประกอบหลัก ดังนี้ (American Dental Association, 1982)

<u>สารขัดสี (abrasive)</u> มีปริมาณร้อยละ 20 -50 เป็นเกลืออนินทรีย์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ เช่นเกลือฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต โซเดียมเมตาฟอสเฟต แคลเซียมไพโรฟอสเฟต แคลเซียมออโทฟอสเฟต แมกนีเซียมคาร์บอเนต เป็นต้น ช่วยในการขจัดเศษอาหาร คราบสี

<u>น้ำ (Liquid)</u> มีปริมาณร้อยละ 20 - 30 ได้แก่ น้ำบริสุทธิ์ (purified water) น้ำไม่มีประจุ (deionized water)

<u>สารเพิ่มความหนืด (Binders)</u> มีปริมาณร้อยละ 0.5 - 2 มีคุณสมบัติเป็นสารแขวนลอยอยู่ร่วมกับน้ำได้ (hydrophilic colloidal properties) และมีความหนืดสูงเป็นสารที่ช่วยให้เกิดการคงรูปของยาสีฟัน ป้องกันการแยกส่วนระหว่างสารที่อยู่สภาวะของเหลวและของแข็ง

<u>สารที่ทำให้เกิดฟอง (suds)</u> มีปริมาณร้อยละ 2 ลักษณะเป็นของแข็ง ผง มีประจุลบได้แก่ โซเดียมลอริลซัลเฟต (sodium lauryl sulfate)โซเดียมโคโคนัทโมโนกลีเซอไรด์ซัลโฟเนต (sodium coconut monoglyceride sulfonate) เป็นต้น

สารให้ความชุ่มชื้น (Humectant) มีปริมาณร้อยละ 20 -40 มีลักษณะเป็นของเหลวได้แก่กลีเซอรอล (glycerol) สารละลายซอร์บิทอล (sorbitol solution) ซึ่งอาจมีผลช่วยการเจริญของแบคทีเรียได้

สารปรุงแต่งกลิ่น สี รส (Flavors) มีปริมาณร้อยละ 1-2 ได้แก่น้ำมันหอมระเหย (essential oil) สารให้ความหวานเช่น แซคคาริน (saccharin) ซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นต้น

สารเสริม (additive) ได้แก่

- สารกันเสีย (preservative) ได้แก่กรดเบนโซอิก (benzoic acid)โพรพิลพาราเบน (propyl-paraben) เมทิลพาราเบน (methyl paraben)

- สารลดอาการเสียวฟัน เช่นกรดซิตริก (citric acid) โปแตสเซียม ไนเตรต (potassium nitrate)

- สารยับยั้งการเกิดคราบจุลินทรีย์ (antiplaque) ได้แก่ แซงกวินารีน (sanguinarine) ซิงค์คลอไรด์ (zinc chloride) ไตรโคลซาน (triclozan)

- สารประกอบฟลูออไรด์ เช่น โซเดียมฟลูออไรด์ โซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต

การแปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์เป็นการเพิ่มความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในน้ำลายได้ถึง 100-1000 เท่า ต่อจากนั้นปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำลายจะกลับเป็นปกติใน1-2 ชั่วโมง ซึ่งบางส่วนของฟลูออไรด์ในน้ำลายจะถูกเก็บในคราบจุลินทรีย์ การใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์อย่างสม่ำเสมอจะทำให้ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำลายและคราบจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Lynch, 2004)

การสำรวจเมื่อปี 1990 ของ Zimmer พบว่ายาสีฟันที่มีจำหน่ายอยู่ ร้อยละ 90 จะมีฟลูออไรด์ผสมอยู่และจากการศึกษาเมื่อ 5-6 ปีที่ผ่านมา พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์สามารถลดอัตราการเกิดฟันผุได้ร้อยละ 15-30 นอกจากนี้การใช้ร่วมกับน้ำที่มีฟลูออไรด์ผสมอยู่จะทำให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น (Zimmer, 2001)

ฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่จับตัวอยู่กับผงขัดซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่สามารถละลายน้ำได้เป็นฟลูออไรด์ที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยาได้ ดังนั้นทำให้ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่บอกไว้ข้างฉลากยาสีฟันมีค่าลดลง อย่างไรก็ดีองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดให้มีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้ในยาสีฟันทั้งโซเดียมฟลูออไรด์และเมตาฟลูออโรฟอสเฟตต้องมีค่าไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด (Hashizume และคณะ, 2003)

การเก็บยาสีฟันไว้นานกว่า 1 ปี มีแนวโน้มที่จะลดปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมดที่ทำปฏิกิริยาได้และเพิ่มฟลูออไรด์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ เนื่องจากฟลูออไรด์จะรวมกับแคลเซียมและอยู่ในสภาพที่ไม่ทำปฏิกิริยาและฟลูออไรด์นี้จะไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุ

การทดสอบ availability ของฟลูออไรด์ในยาสีฟันและการซึมผ่านของฟลูออไรด์เข้าสู่ผิวเคลือบฟันพบว่ายาสีฟันส่วนใหญ่ในท้องตลาดของประเทศไทย อินเดียและจีน มีปริมาณ fluoride availability น้อยกว่าที่แจ้งไว้บนฉลากยาสีฟันเมื่อเปรียบเทียบกับยาสีฟันคอลเกต (Itthagarun และ Wei, 1996)

มีหลายการศึกษาเกี่ยวกับ ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันกับความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุ และหลายการศึกษาสรุปว่าปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันมีความสัมพันธ์โดยตรงกับประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ปริมาณ 250 ส่วนในล้านส่วนมีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1,000 ส่วนในล้านส่วน ในขณะที่การเปรียบเทียบยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนส่วนใหญ่พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันและในบางการศึกษาพบว่าให้ผลต่างกัน แต่การเปรียบเทียบผลทางสถิติยังไม่เป็นที่น่าเชื่อถือ ดังนั้นยังไม่มีข้อสรุปของผลการศึกษาในปัจจุบัน (Winter, Holt และ Williams, 1989 ; Ammari, Bloch-Zupan และAshley, 2003)

วิธีการใช้ยาสีฟันฟลูออไรด์ให้มีประสิทธิภาพสูงคือให้ปริมาณฟลูออไรด์ตกค้างอยู่ในช่องปากได้มากที่สุดโดยให้บ้วนน้ำหลังจากแปรงฟันเล็กน้อย จากการศึกษาของ Sjogren, Birkhed และ Rangmar ในปีค.ศ.1995 เปรียบเทียบเด็กอายุ 4 ปี ที่แปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์และบ้วนยาสีฟันออกและไม่บ้วนน้ำตามเทียบกับกลุ่มควบคุมที่แปรงฟันตามวิธีปกติพบว่ามีอัตราการเกิดฟันผุน้อยกว่า ทั้งนี้การแทรกซึมของฟลูออไรด์ผ่านเข้าไปในคราบจุลินทรีย์ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 30 วินาที ระยะเวลาที่คราบจุลินทรีย์สัมผัสกับฟลูออไรด์จะเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่ซึมลงไปใต้ชั้นคราบจุลินทรีย์ด้วยดังนั้น วิธีการแปรงฟันอาจเป็นปัจจัยที่ควรคำนึงถึงนอกจากปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟัน (Watson และคณะ, 2005)

เด็กอายุน้อยกว่า 2 ปี ที่ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์จะมีอัตราเสี่ยงสูงต่อการมีฟันตกกระมากกว่าเด็กที่ไม่ได้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ เนื่องจากยาสีฟันขนาดความเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วน เมื่อบีบยาสีฟันเต็มแปรงจะประกอบด้วยยาสีฟันประมาณ 0.75-1 กรัม ซึ่งในแต่ละ 1 กรัมจะประกอบด้วย 1 มิลลิกรัมฟลูออไรด์ ดังนั้น เด็กอายุต่ำกว่า 3 ปีจะกลืนยาสีฟันลงไปประมาณ 0.3 – 0.8 กรัมต่อการแปรง 1 ครั้ง (Horowitz, 1992) ส่วนในเด็กอายุ 2-4 ปีที่ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วนในปริมาณ 0.5 กรัมจะกลืนยาสีฟันลงไปปริมาณ 0.15 มิลลิกรัมฟลูออไรด์ คิดเป็นร้อยละ 30 ของปริมาณที่ใช้ (Steven, 1999) ปริมาณ ยาสีฟันที่ถูกกลืนสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณยาสีฟันที่เด็กใช้ การแปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์วันละ 2 ครั้ง ทำให้เด็กจำนวนหนึ่งได้รับฟลูออไรด์ใกล้เคียงกับปริมาณที่เหมาะสมในการป้องกันฟันผุ ดังนั้นหากเด็กได้รับฟลูออไรด์จากแหล่งอื่นร่วมด้วย เช่น น้ำดื่มที่มีฟลูออไรด์ หรือรับประทาน

ฟลูออไรด์เสริม เพื่อป้องกันฟันผุ จำเป็นต้องควบคุมปริมาณยาสีฟันที่เด็กใช้ให้ใกล้เคียงเมล็ดถั่วเขียวหรือประมาณ 0.5 กรัม หรือเลือกใช้ยาสีฟันสูตรความเข้มข้นของฟลูออไรด์ต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาฟันตกกระ ซึ่งมาจากการได้รับฟลูออไรด์เกิน 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว

เมื่อศึกษาถึงชนิดของยาสีฟันที่เด็กก่อนวัยเรียนใช้แปรงพบว่า เด็กจะใช้ยาสีฟันสำหรับเด็กในปริมาณที่มากกว่าและใช้เวลาแปรงนานกว่าและมักไม่บ้วนน้ำออกมากเมื่อเทียบกับการใช้ยาสีฟันสำหรับผู้ใหญ่ (Steven และ Thomas, 1992; Steven, William และ Carole,1997) ดังนั้นฟลูออไรด์ที่ใส่ในยาสีฟันสำหรับเด็กจะสัมผัสกับช่องปากในปริมาณที่มากกว่าและระยะเวลาที่นานมากกว่า

ในเด็กที่อายุต่ำกว่า 6 ปีสมาคมทันตแพทย์แห่งประเทศสหรัฐอเมริกาแนะนำให้ใช้ยาสีฟันปริมาณเท่าเม็ดถั่วเขียว คือประมาณ 0.5 กรัม และให้ใช้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ครั้งต่อ 1วัน และในปี 1996 สมาคมทันตแพทย์แห่งประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดให้ยาสีฟันสำหรับเด็กให้มีการติดฉลากคำแนะนำว่าเด็กอายุต่ำกว่า 6 ปีควรใช้ปริมาณยาสีฟันเท่ากับที่ได้แนะนำไว้ (Steven และคณะ, 2001)

การทดสอบความไวของยาต่อเชื้อแบคทีเรีย

การนำเชื้อแบคทีเรียมาทำการทดสอบความไวของเชื้อควรมีการตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ตั้งแต่จำนวนเซลล์เริ่มต้น จำนวนเซลล์ระหว่างการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ เซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่เจริญได้ ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่

1. การกำหนดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียโดยเทียบกับปริมาณความขุ่นของเชื้อที่แขวนลอย กับความขุ่นของสารสเกล 1 ของแมคฟาแลนด์ ซึ่งเตรียมโดยการนำแบเรียมคลอไรด์ร้อยละ 1 ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรผสมกับกรดซัลฟูริกร้อยละ 1 ปริมาณ 9.9 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นจำนวนแบคทีเรียมาตรฐานความเข้มข้น 3 x 10^8 โคโลนีในหนึ่งมิลลิลิตรซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีบอกปริมาณของเชื้อที่ไม่ละเอียด
2. การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial Population Count)

2.1 การนับโดยตรง (direct count) เป็นการนับจำนวนโดยตรงจากกล้องจุลทรรศน์ เช่น การนับเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการตรึงและย้อมสี (stained film) วิธีนี้เป็นการนับเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 0.01 มล. ที่ถูกตรึงและย้อมสีอยู่บนสไลด์ภายในพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตรวิธีนี้มีข้อดีตรงที่ทำง่าย รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่แพง แต่มีข้อเสียตรงที่เป็นการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดทั้งเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต นอกจากนี้ตัวอย่างที่จะตรวจนับต้องมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียมาก

2.2 การนับเชื้อบนสไลด์ที่มี แอ่งสำหรับนับโคโลนี (chamber counter) ซึ่งจะประกอบด้วยแอ่ง(chamber) ซึ่งรู้ความลึกของแอ่งและที่พื้นของแอ่งจะมีตารางสี่เหลี่ยมซึ่งทราบความกว้างความ

ยาวของตารางสี่เหลี่ยม ดังนั้นเมื่อหยดเชื้อจุลินทรีย์ลงไปในแอ่งที่มีแผ่นฟิล์มใสปิดอยู่ตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์และคำนวณหาจำนวนเซลล์

2.3 การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะบนจานอาหาร (dilution plate count)

การนำอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นมาใช้ตั้งแต่ปลายทศวรรษที่ 18 ทำให้เกิดการพัฒนาวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยการนับจำนวนโคโลนี วิธีการดังกล่าวมีพื้นฐานจากข้อสมมติฐานว่า เซลล์จุลินทรีย์หนึ่งเซลล์เจริญและแบ่งตัวเพื่อสร้างโคโลนีเดี่ยว เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (original inoculum) มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) และไม่มีเซลล์ใดๆที่อยู่รวมกัน (no aggregate) โดยทั่วไปจะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์เท่านั้น ดังนั้นเพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารอยู่ในช่วงดังกล่าว ควรทำการเจือจางเชื้อเริ่มต้นเป็นลำดับ (serial dilution) แล้วทำการเพาะแต่ละระดับการเจือจางลงบนจานเพาะเชื้อ นับจำนวน ทำการคำนวณหาจุลินทรีย์ต่อมิลลิตรของตัวอย่างได้ การรายงานผลมักรายงานเป็นโคโลนี (colony forming unit ;CFU) ซึ่งมากกว่าจำนวนจุลินทรีย์ เนื่องจากไม่สามารถบอกได้อย่างแน่นอน ชัดเจนว่า 1 โคโลนีมาจาก 1 เซลล์ การนับจำนวนด้วยวิธีนี้จึงเป็นการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable count) ซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่

- Pour plate คือการหยดเชื้อไปบนจานอาหารแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิ 44 – 46 องศาเซลเซียสลงไปผสมเชื้อจุลินทรีย์กับให้เข้าอาหาร

- Spread plate คือการใช้เชื้อ 0.1 มิลลิลิตรหยดลงบนจานอาหารที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งแข็งตัวแล้วแผ่กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว

- Drop plate คือการหยดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางที่เหมาะสมลงบนจานอาหารหนึ่งจานต่อ 5 จุด โดยแต่ละจุดใช้ปริมาณ 0.02 มิลลิตรปล่อยให้แห้งอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อเลือกจานเพาะเชื้อที่มีระดับการเจือจางเหมาะสมคือ มีเชื้อจุลินทรีย์บนจานอาหารแต่ละจุดไม่เกิน 10 โคโลนีนับจำนวนโคโลนีทั้ง 5 จุดรวมกันและคำนวณจำนวนเชื้อ

- Membrane filtration method วิธีนี้เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีจำนวนแบคทีเรียอยู่น้อยและจำเป็นต้องใช้ปริมาตรของตัวอย่างมากเพื่อความแม่นยำในการตรวจหาจุลินทรีย์แบบปริมาณวิเคราะห์ เช่น ตัวอย่าง 100 มิลลิลิตรหรือมากกว่าจะถูกกรองผ่านแผ่นกรองซึ่งมีรูขนาด 0.45 ไมครอนที่แบคทีเรียไม่สามารถผ่านได้ ดังนั้นแบคทีเรียจะถูกกักอยู่บนกระดาษกรอง จากนั้นนำกระดาษกรองวางในจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษซึ่งชุ่มด้วยอาหารเหลว แบคทีเรียจะเจริญบนกระดาษกรอง

การทดสอบความไวของเชื้อเป็นวิธีที่ใช้ทดสอบความไวของเชื้อต่อสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละชนิด เช่นการทดสอบยาต้านจุลชีพ มีหลักและวิธีต่างๆดังนี้

การทดสอบด้วยวิธีการเจือจาง (Dilution method)

วิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน โดยผสมยาต้านจุลชีพในอาหารเลี้ยงเชื้อก่อน แล้วจึงนำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเพาะลงในอาหารนั้น นำไปอบที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ทำได้ 2 วิธี ดังนี้

การเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลว (Broth dilution)

เป็นวิธีเจือจางยาปฏิชีวนะในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลวชนิดมิลเลอร์- ฮิลตัน (Meuller – Hinton broth)โดยให้ความเข้มข้นของยาลดลงทีละครึ่งต่อเนื่องกันไป (two – fold serial dilution) แล้วเติมเชื้อที่จะทดสอบลงไปเท่าๆกันทุกหลอด นำไปอบที่อุณหภูมินาน 18 ชั่วโมง แล้วหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration; MIC) คือความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดในหลอดใสที่ไม่มีเชื้อขึ้น เมื่อดูด้วยตาเปล่า ส่วนการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ (minimum bacteriocidal concentration; MBC) ทำโดยการนำหลอดใสทุกหลอดไปเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดใหม่ที่ไม่มียาต้านจุลชีพ ความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดในหลอดที่ไม่มีเชื้อขึ้นจะเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ

วิธีนี้มีข้อดีที่สามารถทราบระดับยาที่แน่นอนเป็นแต่ไม่เหมาะสำหรับงานประจำในห้องปฏิบัติการ เพราะใช้เวลาและค่าใช้จ่ายสูงกว่า

การเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น (Agar dilution)

เป็นวิธีเจือจางยาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นต่างๆกันลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ยังหลอมเหลวอุณหภูมิประมาณ 40- 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ ดังนั้นในจานเพาะเชื้อหนึ่งจะมียาต้านจุลชีพที่ความเข้มข้นระดับหนึ่ง สามารถใช้ทดสอบเชื้อหลายชนิดได้จานเพาะเชื้อเดียวกัน เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวแล้ว นำเชื้อที่ต้องการจะทดสอบมาเพาะลงในบริเวณที่กำหนดไว้ เพาะลงในจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพน้อยที่สุดแล้วจึงไปเพาะในจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นตามลำดับ นำจานเพาะเชื้อไปอบที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมงแล้วจึงอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้

การทดสอบด้วยวิธีการแพร่ (diffusion method)

การแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น(Agar diffusion)

วิธีของ Kirby-Bauer และวิธี Stokes เป็นวิธีที่นำมาใช้ในการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรีย วิธีนี้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ และความเข้มข้นต่ำสุดที่

สามารถทำลายเชื้อโดยตรงไม่ได้แต่สามารถบอกได้ว่าเชื้อแบคทีเรียมีความไวต่อยา หรือดื้อยาโดยเทียบกับค่ามาตรฐานในตาราง วิธี Kirby-Bauer ได้รับการแนะนำให้ใช้โดย National Clinical Committee for Laboratory Standard (NCCLS) เสนอวิธีการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรีย (antimicrobial susceptibility testing, AST) แนะนำให้ใช้กับเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเร็วเท่านั้น วิธีนี้ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทางทันตกรรมนั้นมักจะใช้วิธีการแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นดังกล่าวนี้ในห้องปฏิบัติการ เช่น การทดสอบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันที่มีสารระงับเชื้อ การทดสอบยาฆ่าเชื้อในคลองรากฟัน ทดสอบการยับยั้งเชื้อจากการใช้วัสดุอุดฟันเป็นต้น การทดสอบวิธีนี้ควรคำนึงถึงอัตราการแพร่ของสารที่นำมาทดสอบด้วย ซึ่งควรมีอัตราการแพร่ที่ไม่แตกต่างกันเพื่อศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Lee, Zhang, 2004)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง (Population/ sample)

ประชากรเป้าหมาย เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่มีคุณสมบัติทำให้เกิดโรคฟันผุ

ตัวอย่าง เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ดังต่อไปนี้

1. *Streptococcus mutans ATCC 25175*
2. *Streptococcus sobrinus OMZ 176a*
3. *Lactobacillus casei IFO 3533*

<u>เทคนิคการสุ่มตัวอย่าง</u>

การสุ่มตัวอย่างโดยไม่ได้อาศัยทฤษฎีความน่าจะเป็น (non probability sampling) โดยวิธีการเลือกกลุ่มตัวอย่างตามจุดมุ่งหมาย (purposive sampling)

<u>เกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา</u>

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเลือกมาจากแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่เลี้ยงในห้องทดลองชนิดที่มีคุณสมบัติทำให้เกิดฟันผุ

สิ่งแทรกแซง (intervention)

ยาสีฟันชนิดเจลและชนิดเพสต์ที่มีส่วนประกอบของฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยที่ไม่มีการเติมสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่นส่วนผสมของสมุนไพร คาร์โมไมล์ ไตรโคซาน เป็นต้น จากการสำรวจยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในประเทศไทยโดยกองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข มียาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้งหมด 18 รุ่น ยาสีฟันสำหรับเด็กที่มีฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 รุ่น และยาสีฟันสำหรับเด็กที่มีฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 7 รุ่น (กองทันตสาธารณสุข, 2547)

ผู้วิจัยเลือกยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทย จำนวน 6 ตัวอย่าง และ ยาสีฟันที่มีของฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทยอย่างละ 6 ตัวอย่าง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ได้แก่

1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ 0.11โดยน้ำหนัก บริษัทคอลเกต – ปาล์มโอลีฟ (ประเทศไทย) จำกัด
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.38โดยน้ำหนัก บริษัทไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด
3. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.38โดยน้ำหนักบริษัทไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.19โดยน้ำหนัก และโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ0.5525 โดยน้ำหนักบริษัทแอลเอฟดีแมนูแฟคเจอริ่ง จำกัด
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.38 โดยน้ำหนัก บริษัทไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ0.11โดยน้ำหนักบริษัทไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด

กลุ่มที่ 2 ยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ได้แก่

1. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ0.021โดยน้ำหนักและโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ0.683โดยน้ำหนักบริษัทแอลเอฟดีแมนูแฟคเจอริ่ง จำกัด
2. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.76โดยน้ำหนัก บริษัทคอลเกต – ปาล์มโอลีฟ(ประเทศไทย) จำกัด
3. ยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์ ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก บริษัทแอลเอฟดีแมนูแฟคเจอริ่ง จำกัด
4. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 0.76โดยน้ำหนัก บริษัทคอลเกต – ปาล์มโอลีฟ(ประเทศไทย) จำกัด
5. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ0.22 โดยน้ำหนักบริษัทอังกฤษตรางู แอล.พี.จำกัด
6. ยาสีฟันไกล้ชิดมิลค์แคลเซียมชนิดเพสต์ มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ0.22 โดยน้ำหนัก บริษัทยูนิลิเวอร์ ไทยเทรดดิ้ง จำกัด

ขนาดตัวอย่างและการสุ่มตัวอย่าง

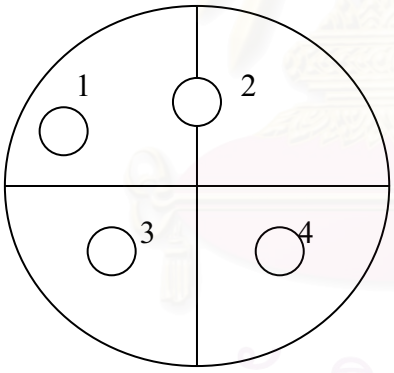
<u>การจัดสรรกลุ่มตัวอย่าง</u> (Subject allocation)

ใช้วิธีการจัดสรรแบบสุ่ม (random allocation)

<u>การเลือกตัวอย่างเข้าสู่กลุ่มทดลอง</u>

ให้ผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องในการทดลองกำหนดรหัสยาสีฟันทั้ง 12 ตัวอย่าง ยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ 1 ตัวอย่าง และสารควบคุมบวก 2 ตัวอย่างได้แก่สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนและ 100 ส่วนในล้านส่วน รวมทั้งหมดเป็น 15 ตัวอย่างเป็นตัวอักษรภาษาอังกฤษดังนี้ A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O ในขั้นตอนที่ชั่งยาสีฟันตัวอย่างใส่ในหลอดทดลองพลาสติกปริมาตร 15 มิลลิลิตรซึ่งเหมือนกันทุกหลอด เพื่อไม่ให้ผู้ทำวิจัยทราบชนิดของยาสีฟันและสารควบคุมระหว่างการทดลอง

กำหนดช่องที่เจาะในจานเพาะเชื้อทั้งหมด 4 ตำแหน่งในแต่ละจาน กำหนดให้จานเพาะเชื้อทุกจาน ทดสอบด้วยสารควบคุมเชิงลบได้แก่น้ำกลั่น 1 ช่อง(ช่องที่ 1) และกำหนด 3 ช่องที่เหลือ (ช่องที่ 2-4) ทดสอบด้วยยาสีฟันโดยใส่ยาสีฟันทดลองหนึ่งตัวอย่างสามครั้งในจานเพาะเชื้อเดียวกัน



ทดสอบด้วยยาสีฟันตัวอย่างทั้งหมด 12 ตัวอย่างและสารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน ดังนี้

1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล
3. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล
7. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์
8. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์

9. ยาสีฟันยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์
10. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์
11. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล
12. ยาสีฟันใกล้ชิดชนิดเพสต์
13. ยาสีฟันคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯที่ไม่ผสมฟลูออไรด์
14. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 50 ppm
15. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 100 ppm

ดังนั้นจะใช้จานเพาะเชื้อทั้งหมด 15 จานเพื่อทดสอบตัวอย่างทั้งหมด 15 ตัวอย่างต่อเชื้อ 1 สายพันธุ์

<u>ขนาดตัวอย่าง</u>

กำหนดขนาดตัวอย่างโดยพิจารณาทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ภายในเวลาต่างกัน

<u>ตัวแปรหลักในการวิจัย</u>

ตัวแปรอิสระ(independent variable) ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในยาสีฟัน

ตัวแปรตาม(dependent variable) ความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดฟันผุ โดยวัดจากขนาดความกว้างเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ที่ไม่มีเชื้อขึ้น (inhibition zone) รอบหลุมที่ใส่ยาสีฟันตัวอย่าง ในจานเพาะเชื้อ

ตัวแปรที่ไม่ต้องการ (confounding factor)

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบความไวของยาสีฟันแต่ละชนิดต่อเชื้อแบคทีเรีย

1. จำนวนของเชื้อแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดสอบ การวิจัยครั้งนี้ควบคุมปัจจัยนี้โดยการนำเชื้อที่ใช้ทดสอบมาจำนวนเท่ากันในแต่ละการทดลอง

2. ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ การวิจัยครั้งนี้ผู้ดำเนินการวิจัยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเท่ากันในแต่ละจานเพาะเชื้อ

3. อุณหภูมิและความชื้น การวิจัยครั้งนี้มีการควบคุมความชื้นของเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ คือก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ทดสอบ ถ้าจานเพาะเชื้อมีไอน้ำขังอยู่จะนำจานเพาะเชื้อไปใส่ในตู้อบเชื้ออุณหภูมิ 37°C หรือตู้ laminar flow hood ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าไอน้ำจะระเหยไป พื้นผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อควรมีลักษณะชื้น แต่ไม่ควรปรากฏไอน้ำบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ตู้อบเชื้อมีการปรับอุณหภูมิอยู่ในระดับคงที่ตลอดเวลา

4. เวลาที่ใช้ในการเพาะเชื้อ การวิจัยครั้งนี้ได้ควบคุมเวลาที่ใช้ในการเพาะเชื้อให้เท่ากันตลอดการทดลอง

5. ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ การวิจัยครั้งนี้ได้ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากันในแต่ละการทดลอง

วิธีการทดลอง

1. การหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำได้ในยาสีฟัน

การทดสอบหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำได้ทำตามวิธีการทดสอบของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมยาสีฟันปี 2549 ทำการทดลองที่ศูนย์ชีววิทยาช่องปาก ชั้น 9 อาคารสมเด็จย่า 93 เพื่อตรวจปริมาณฟลูออไรด์อิออนที่สามารถละลายน้ำได้ในยาสีฟันตัวอย่างแต่ละชนิด

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบ

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม (MELTER AT261 DeltaRange®)
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifuge BHGHermate Z320)
3. เครื่องวิเคราะห์อิออนพร้อมฟลูออไรด์อิเล็กโทรด (pH/ Ion Meter)
4. เครื่องคนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
5. ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส
6. หลอดพลาสติกที่นำเข้าเครื่องเหวี่ยงขนาดปริมาตร 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร

สารที่ใช้ในการทดสอบ

1. สารละลายบัฟเฟอร์ปรับความแรงอิออน(total ionic strength adjustment buffer,TISAB III)
2. สารละลายกรดเปอร์คลอริก (perchloric acid) 2 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
3. สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์

เตรียมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของฟลูออไรด์ 1, 10, 50 และ 100ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ

วิธีการหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำได้ในยาสีฟัน

1. ชั่งยาสีฟันตัวอย่าง 1 กรัมในหลอดพลาสติกให้ได้มวลที่แน่นอนเติมน้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน
2. นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนด้วยอัตราเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

3. ใช้ปิเปตดูดสารละลายส่วนใสมา 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ไอออนนิกสเตร็งค์ (total ionic strength adjustment buffer, TISAB III) 4 ลูกบาศมิลลิเมตร เขย่าให้เข้ากัน
4. หาฟลูออไรด์ไอออนด้วยเครื่องวิเคราะห์หาไอออน โดยใช้ฟลูออไรด์อิเลกโทรด

<u>หลักการทำงานของฟลูออไรด์อิเลกโทรด</u>

เป็นการหาปริมาณฟลูออไรด์อิออนโดยใช้ ion selective electrode อาศัยความแตกต่างระหว่างความต่างศักย์ของผลึก Iantanum fluoride บนผิวอิเล็กโทรดกับสารละลาย เทียบกับสารละลายมาตรฐานโดยเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณอิออน (potentiometer)

<u>การคำนวณหาปริมาณฟลูออไรด์</u>

ปริมาณแอคทิฟฟลูออไรด์อิออน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) $= \frac{c \times 10}{m_1}$

เมื่อ c คือความเข้มข้นของฟลูออไรด์อิออนที่วัดได้ (ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)

m_1 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

<u>2. การทดสอบความไวของยาสีฟันแต่ละชนิดต่อเชื้อแบคทีเรีย</u>

ผู้ดำเนินการวิจัยเลือกใช้วิธีการทดสอบด้วยการแพร่(diffusion test) สำหรับทดสอบเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนเนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการทดสอบเชื้อที่เจริญเร็ว เช่น สเตรปโตคอคไค ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วและสามารถนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกันโดยง่าย โดยการเปรียบเทียบพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นเป็นมิลลิเมตร (inhibition area)

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบ

1. หลอดแก้วทดลองปราศจากเชื้อ (sterile test tube)
2. หลอดพลาสติกเอพเพนดอฟ (eppendorf®)
3. หลอดพลาสติกขนาด 15 มิลลิตร
4. จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร (Petri dish) ในการทดลองนี้ใช้จานเพาะเชื้อที่มีขนาดเท่ากันหมดเพียงชนิดเดียวคือ เป็นจานเพาะเชื้อ pyrex ®

5. เครื่องมือเจาะชิ้นเนื้อ (biopsy punch ; Stiefel ®) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตรใช้สำหรับเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น
6. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
7. ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
8. ปิเปตขนาด 25 มิลลิลิตร
9. ไมโครปิเปตขนาด 100 ไมโครลิตร
10. คนโทเลี้ยงเชื้อขนาด 1000 มิลลิลิตร (Flask)
11. คนโทเลี้ยงเชื้อขนาด 300 มิลลิลิตร (Flask)
12. คนโทเลี้ยงเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร (Flask)
13. แท่งแก้วรูปตัวแอล (glass rod)
14. ด้ามลวดรูปห่วงสำหรับเขี่ยเชื้อ (sterile loop)
15. คิวเวต (cuvette)
16. หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave)
17. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/visible spectrophotometer; Ultraspec 3000 pro; Pharmacia ® Biotech, England)
18. ตู้อบเชื้อที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5(Infared CO_2incubator; Forma Scientific®, 3194; Forma Scientific, USA)
19. กล้องจุลทรรศน์ (light microscope)
20. ตู้ laminar flow hood
21. เครื่องนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรีย (colony counter 560 SUNTEX®)
22. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม (MELTER AT261 DeltaRange®)
23. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH electrode)

สารที่ใช้ในการทดสอบ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (brain heart infusion agar)
2. อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลว ทริปติกซอยบรอท (tryptic soy broth)
3. น้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อ
4. น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ

2.1 การเตรียมยาสีฟัน

1. ชั่งยาสีฟันฟลูออไรด์ตัวอย่างละ 1 กรัมในหลอดพลาสติกเติมน้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที
2. นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนด้วยอัตราเร็ว 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที ใช้ปิเปตดูดสารละลายส่วนใส (supernate) มาไว้เพื่อทดสอบ กับเชื้อจุลินทรีย์

2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น BHI อัตราส่วนตามคำแนะนำของบริษัท และปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 7.3 ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH electrode) และไปเข้าหม้อนึ่งอบไอน้ำ
2. นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิประมาณ 45- 50 องศาเซลเซียส
3. ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 2 ด้วยปิเปตขนาด 25 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อขนาด10 เซนติเมตร ได้วุ้นหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร
4. ทิ้งอาหารเลี้ยงเชื้อให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง ถ้าไม่ได้ทำการทดลองในวันเดียวกัน เก็บในตู้เย็นที่มีอุณภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียสไม่เกินหนึ่งสัปดาห์

2.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย (Inoculum)

1. นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่จะใช้ทดสอบ (standard strain) มาย้อมสีกรัม (gram stain) นำไปตรวจดูรูปร่างและลักษณะการเรียงตัวของเชื้อแต่ละชนิดโดยกล้องจุลทรรศน์
2. นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่จะใช้ทดสอบ (standard strain) จำนวน 3 สายพันธุ์ไปเก็บในกลีเซอรีนผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 เก็บในหลอดพลาสติกเอพเพนดอฟ (eppendorf®) โดยทำเก็บไว้จำนวน 3 สายพันธุ์ จำนวน 5 หลอด (aliquot) ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส
3. เมื่อทำการทดลองจึงนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานจากข้อ 2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดผสมเลือด (blood agar) และอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลวทริปติกซอยบรอทสลับกัน 3 รุ่น (subculture) เพื่อให้เชื้อมีความสมบูรณ์สำหรับใช้ในการทดลอง
4. นำเชื้อที่มีลักษณะเป็นโคโลนีเดี่ยว จำนวน 3-4 โคโลนี จากจานเพาะเชื้อในข้อ 3 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติกซอยบรอท ปริมาณ 30 มิลลิลิตรในคนโทเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตรและนำไปอบภายในตู้อบเชื้อคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. นำเชื้อที่ใช้ทดสอบมาปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากันในการทดลองแต่ละครั้งโดยใช้วิธีนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียโดยการเจือจาง (dilution plate count)

<u>วิธีนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย</u>

1. นำเชื้อที่ใช้ทดสอบมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลวทริปติกซอยบรอทในคนโทเลี้ยงเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตรเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
2. ปรับปริมาณของเชื้อโดยเจือจางด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า วัดความขุ่นของเชื้อ (optical dentsity) ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร
3. นำเชื้อปรับความขุ่นเท่ากับที่กำหนดไว้ ในข้อ 2 มาเจือจางในหลอดทดลองด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 โดยใช้เชื้อในข้อ 2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำเกลือ 9 มิลลิลิตร เป็นอัตราส่วนหนึ่งส่วนในสิบส่วน
4. เชื้อในข้อ 3 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำเกลือ 9 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นการเจือจางโดยลำดับ (serial dilution) ลำดับละสิบเท่า ทำเช่นนี้ต่อไปตามลำดับจนได้เชื้อที่เจือจางด้วยอัตราส่วนหนึ่งในล้านส่วนของเชื้อที่กำหนดความขุ่นเริ่มต้นในข้อ 2
5. นำเพาะในจานเพาะเชื้อด้วยวิธี spread plateโดยนำเชื้อในหลอดทดลองแต่ละหลอดปริมาณ 100 ไมโครลิตรมาหยดลงอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นและใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลกวาดเชื้อให้สม่ำเสมอกันในแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยทำซ้ำกัน 3 ครั้งในเชื้อที่เจือจางในแต่ละอัตราส่วน
6. เชื้อในจานเพาะเชื้อไปเลี้ยง ภายในตู้อบเชื้อ (aerobic incubator) ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
7. นำออกมาวัดจำนวนโคโลนีโดยใช้เครื่องนับจำนวนโคโลนี โดยมีตารางแบ่งช่องพื้นที่จานเพาะเชื้อเป็น 25 ช่อง และเข็มจิ้มโคโลนี พร้อมกับตัวเลขที่นับบนเครื่อง ผู้วิจัยเลือกนับเชื้อในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคลีประมาณ 50– 500 โคโลนี โดยแบ่งพื้นที่จานเพาะเชื้อเป็นหนึ่งส่วนในสองส่วน นับจำนวนโคโลนีแล้วคำนวณเป็นจำนวนเชื้อ
8. นำจำนวนโคโลนีที่วัดได้ในเชื้อแต่ละอัตราส่วนที่เจือจาง ซึ่งทำซ้ำ 3 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนเชื้อที่ใช้ทดสอบในหนึ่งมิลลิลิตร
9. ผู้วิจัยกำหนดให้เชื้อที่จะใช้ทดสอบเมื่อปรับความขุ่นแล้วมีปริมาณเชื้อ 1 – 1.5 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2.4 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุกับยาสีฟัน

การทดสอบความไวของยาสีฟันที่ผสมฟลูออไรด์ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุจำนวน 3 สายพันธุ์โดยทำการทดลองทีละเชื้อ ดังนี้

1. นำอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 2.2 มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 2.3 ที่ได้ปรับความขุ่นจนได้ปริมาณของเชื้อขนาด 1 – 1.5 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตรมาเขย่าให้เข้ากันและเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 2.2 โดยใช้ไมโครปิเปตดูดเชื้อปริมาณ100ไมโครลิตรใส่ลงบนกลางผิววุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลกวาดเชื้อที่หยดลงไปนั้นให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอเต็มพื้นที่จานเพาะเชื้อ วางทิ้งไว้ 5 นาที
2. ใช้เครื่องมือเจาะชิ้นเนื้อ (biopsy punch) เจาะรูอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น เป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรจำนวน 4 ตำแหน่งในแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยกำหนด 3 ตำแหน่งให้มีระยะห่างเท่ากัน และอีก 1 ตำแหน่งสำหรับใส่สารควบคุมเชิงลบกำหนดตำแหน่งไว้ขอบจานเพาะเชื้อ
3. นำยาสีฟันจากข้อ 2.1 ที่เตรียมซึ่งแยกเป็นส่วนของเหลวใส่ลงในรูของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นที่เจาะไว้ โดยใส่ยาสีฟันส่วนของเหลว ปริมาณ 75 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม โดยหลุมตรงขอบจานใส่สารควบคุม (control) ซึ่งในการทดลองนี้ใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเป็นสารควบคุมเชิงลบ
4. นำจานเพาะเชื้อไปเพาะเลี้ยงในตู้อบเชื้อที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5. เมื่อเชื้อเจริญดีแล้วนำจานเพาะเชื้อออกมาถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิต และวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ที่ไม่มีเชื้อขึ้น(inhibition zone) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (Image Pro Plus®)
6. ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง

สถานที่ทำการวิจัย ภาควิชาชีววิทยาชั้น 3 ตึกพรีคลินิก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรวบรวมข้อมูล

วัดและบันทึกค่าขนาดความกว้างเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ที่ไม่มีเชื้อขึ้น (inhibition zone) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปคอมพิวเตอร์ (Image Pro Plus®) โดยวางจานเพาะเชื้อห่างจากพื้นหลังที่เป็นสีเข้มประมาณ 2-3 นิ้วในบริเวณที่ไม่มีแสงสะท้อนและถ่ายภาพออกมา วัดด้วยโปรแกรมซึ่ง

บันทึกค่าเป็นมิลลิเมตร ในระบบมาตราเมตริก โดยทันตแพทย์คนเดียวเป็นผู้ทำการวัดและบันทึกตลอดการวิจัย จากนั้นนำมาคำนวณเป็นพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นโดยไม่นับรวมบริเวณที่เจาะรูซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร โดยใช้สูตรการหาพื้นที่วงกลม ดังนี้

$$= \pi (\text{รัศมีวงกลมใหญ่})^2 - \pi (\text{รัศมีวงกลมเล็ก})^2$$

$$= \pi \left(\frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลาง}}{2} - 3\right)^2$$

การทดสอบความเที่ยงของการวัด

การทดสอบความเที่ยงของการวัดความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ ทำโดยการวัดค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในจานเพาะเชื้อทั้งหมด 20 ตัวอย่างด้วยโปรแกรม Image pro plus® โดยวัดซ้ำ 2 ครั้งในเวลาที่ต่างกันและนำค่าที่วัดได้ทั้ง 2 ครั้งนั้นมาหาทดสอบสมมติฐานหาความแตกต่างกันของเส้นผ่านศูนย์กลางที่วัดได้ ถ้าค่าที่วัดได้ซ้ำ 2 ครั้งนั้นไม่มีความแตกต่างกันแสดงถึงการยอมรับได้ของความเที่ยงในการวัด

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic)

การวัดแนวโน้มเข้าสู่ส่วนกลางได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean), ค่ากลาง (median)

การวัดความผันแปร ได้แก่ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD), ค่าสูงสุด (max), ค่าต่ำสุด (min)

2. การทดสอบสมมติฐาน (Hypothesis testing)

2.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน

สมมติฐานว่าง: ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานแย้ง : ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้แตกต่างกันอย่างน้อย 1 คู่

สถิติที่นำมาทดสอบ

2.1.1 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบปกติ จะเลือกใช้สถิติ ANOVA หาความแตกต่างของยาสีฟันในการยับยั้งเชื้อ

ถ้าผลการทดสอบสมมติฐานปฏิเสธสมมติฐานว่าง จึงเปรียบเทียบพหุคูณระหว่างกลุ่ม (multiple comparison) ด้วย Bonferroni ในกรณีที่ความแปรปรวนเท่ากัน หรือเปรียบเทียบพหุคูณระหว่างกลุ่มด้วย Tamhane's T2 ในกรณีที่ความแปรปรวนไม่เท่ากัน

2.1.2 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบไม่ปกติ จะเลือกใช้สถิติ Krukal Wallis test หาความแตกต่างของยาสีฟันในการยับยั้งเชื้อ

2.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วน

สมมติฐานว่าง: ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานแย้ง : ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้แตกต่างกันอย่างน้อย 1 คู่

<u>สถิติที่นำมาทดสอบ</u>

2.2.1 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบปกติ จะเลือกใช้สถิติ ANOVA หาความแตกต่างของยาสีฟันในการยับยั้งเชื้อ

ถ้าผลการทดสอบสมมติฐานปฏิเสธสมมติฐานว่าง จึงเปรียบเทียบพหุคูณระหว่างกลุ่ม (multiple comparison) ด้วย Bonferroni ในกรณีที่ความแปรปรวนเท่ากัน หรือเปรียบเทียบพหุคูณระหว่างกลุ่มด้วย Tamhane's T2 ในกรณีที่ความแปรปรวนไม่เท่ากัน

2.2.2 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบไม่ปกติ จะเลือกใช้สถิติ Kruskal Wallis test หาความแตกต่างของยาสีฟันในการยับยั้งเชื้อ

2.3 การทดสอบความแตกต่างความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ1000 ส่วนในล้านส่วน

สมมติฐานว่าง: ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านสามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานแย้ง : ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านสามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้แตกต่างกัน

<u>สถิติที่นำมาทดสอบ</u>

2.3.1 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบปกติ จะเลือกใช้สถิติ independent t-test ทดสอบความแตกต่างความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ1000 ส่วนในล้านส่วน

2.3.2 กรณีที่ทดสอบว่าตัวอย่างได้มาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นแบบไม่ปกติ จะเลือกใช้สถิติ Mann Whitney U test ทดสอบความแตกต่างความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ1000 ส่วนในล้านส่วน

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟัน

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 6 ชนิดที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน และ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 6 ชนิดที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน เมื่อนำมาละลายในน้ำกลั่นและเจือจางเป็น 10 เท่า นำสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วนซึ่งใช้เป็นสารควบคุมเชิงบวกมาวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนเปรียบเทียบด้วย และทำการวัดทั้งหมด 3 ครั้ง พบว่าในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนมี 5 ชนิดมีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมากกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 98.87, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 93.39, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ 96.91, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ91.61, โคโดโมไลอ้อนชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 96.36 และมีเพียง 1 ชนิดที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 61.93 ส่วนในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนมี ยาสีฟันเพียง 3 ชนิดที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมากกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์มีค่าเท่ากับร้อยละ 87.62, คิดดี – โอ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ93.20 และ ใกล้ชิดชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ 106.42 และ มี 3 ชนิดที่มีฟลูออไรด์อิออนที่ละลายน้ำได้น้อยกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ฟลูออคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ 72.45, คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ 22.57 และ ดาร์ลี่ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับร้อยละ27.59 แสดงผลดัง *ตารางที่ 1*

ตารางที่ 1 ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออน (ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร)

	ยาสีฟัน	สารประกอบฟลูออไรด์ (ร้อยละ)	ฟลูออไรด์อิออน	ฟลูออไรด์อิออน (ร้อยละ)
ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน				
1	คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล	NaF 0.11	49.44 ± 1.89	98.87
2	เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล	MFP 0.38	46.69 ± 1.26	93.39
3	เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์	MFP 0.38	48.46 ±4.53	96.91
4	ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล	MFP 0.19 NaF0.5525	30.97 ± 11.86	61.93
5	โคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์	MFP 0.38	45.81 ± 6.89	91.61
6	โคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล	NaF 0.11	48.18 ± 2.56	96.36
ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน				
7	ฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์	NaF 0.021 + MFP 0.683	72.45 ± 1.99	72.45
8	คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์	MFP 0.76	22.57 ± 5.28	22.57
9	ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์	NaF 0.2	87.62 ± 0.94	87.62
10	ดาร์ลี่ ชนิดเพสต์	MFP 0.76	27.59 ± 9.86	27.59
11	คิดดี – โอ ชนิดเจล	NaF 0.22	93.20 ± 0.54	93.20
12	ใกล้ชิดชนิดเพสต์	NaF 0.22	106.42 ± 26.55	106.42
สารควบคุมเชิงบวก				
13	สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน50 ppm	NaF 0.01	44.11 ± 4.11	88.22
14	สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน100 ppm	NaF 0.02	99.75 ± 0.30	99.75

การปรับปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย

การทดลองนี้มีการปรับปริมาณเชื้อแต่ละสายพันธุ์โดยกำหนดให้เชื้อมีปริมาณเท่ากันในแต่ละการทดลอง เท่ากับ 1 – 1.5 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสง(optical dentsity) ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความขุ่นไม่เท่ากัน จึงมีการปรับปริมาณเชื้อ ดังนี้

เชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ 0.1 นับปริมาณเชื้อได้เท่ากับ 1.0×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

เชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ 0.1 นับปริมาณเชื้อได้เท่ากับ 2.99×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จึงนำไปเจือจางเป็น 3 เท่าด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ0.85 ได้ปริมาณเชื้อเท่ากับ 1.0×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

เชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ 0.6 นับปริมาณเชื้อได้เท่ากับ 3.13×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตรจึงนำไปเจือจางเป็น 3 เท่าด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ได้ปริมาณเชื้อเท่ากับ1.04×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์แต่ละชนิด

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ทั้ง 12 ชนิด, ยาสีฟันที่ไม่ผสมฟลูออไรด์ สารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วนและ สารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วนซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวก ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์โดยแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ย (ไม่นับบริเวณพื้นที่ที่เจาะรู) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในจานเพาะเชื้อของยาสีฟันทั้ง 12 ชนิดและ สารควบคุมเชิงบวกแสดงผลดัง *ตารางที่ 2*

ตารางที่ 2 พื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (ตารางมิลลิเมตร) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์

ยาสีฟัน	*S. mutans*	*L.casei*	*S.sobrinus*
ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน			
1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล	94.64 ±21.09	121.21±12.92	100.77±25.53
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล	118.37 ±54.14	128.78±88.64	94.02±22.47
3. เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์	118.22 ±36.12	122.02±53.24	109.84±61.06
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล	85.53 ±32.94	98.80±21.96	67.16±24.59
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์	150.00 ±96.24	196.56±73.08	125.86±48.67
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล	124.44 ±62.09	110.63±49.53	76.10±26.87
ค่าเฉลี่ยยาสีฟัน 500 ส่วนในล้านส่วน	115.20±33.22	129.67±39.02	95.62±19.72
ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน			
7. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์	311.23 ±136.16	399.62±156.32	353.59±91.86
8. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์	161.67 ±120.61	192.23±37.44	199.27±80.85
9. ยาสีฟันยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์	429.91 ±79.06	435.07±15.26	419.88±27.89
10. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์	279.55 ±134.12	320.89±53.60	207.06±79.81

11. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล	321.29 ±28.51	293.43±109.67	346.43±60.16
12. ยาสีฟันใกล้ชิดชนิดเพสต์	429.53 ±40.37	504.53±88.16	402.31±48.65
ค่าเฉลี่ยยาสีฟัน 1000 ส่วนในล้านส่วน	322.20±32.77	357.63±26.85	321.42±23.13
13. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน 50 ppm	87.96 ±38.13	125.38±23.96	121.61±13.56
14. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน 100 ppm	132.17 ±39.21	324.88±88.00	129.46±103.10
15. ยาสีฟันคณะทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาฯไม่มีฟลูออไรด์	53.13±27.49	53.73±22.39	48.77±22.56

การทดสอบการยับยั้งเชื้อของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ในการศึกษานี้ ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ซึ่งคิดเป็นจำนวนตัวอย่างที่น้อย และเมื่อนำมาทดสอบการกระจายของข้อมูล พบว่าในบางกลุ่มตัวอย่างข้อมูลมีการกระจายแบบไม่ปกติ จึงพิจารณาใช้สถิตินอนพาราเมตริกมาทดสอบสมมติฐานหาความแตกต่างของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในจานเพาะเชื้อ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์มาทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้งหมด 12 ชนิด

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรมีดังนี้ คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 94.64 ± 21.09, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 118.37 ± 54.14, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 118.22± 36.12, ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล มีค่าเท่ากับ 85.53 ± 32.94, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 150.00 ± 96.24 และโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 124.44 ± 62.09

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ผลการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรดังนี้ คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 121.21 ± 12.92, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล มีค่าเท่ากับ 128.78 ± 88.64, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 122.02 ± 53.24, ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจลมีค่า

เท่ากับ 98.80 ± 21.96, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 196.56 ± 73.08, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 110.63 ± 49.53

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

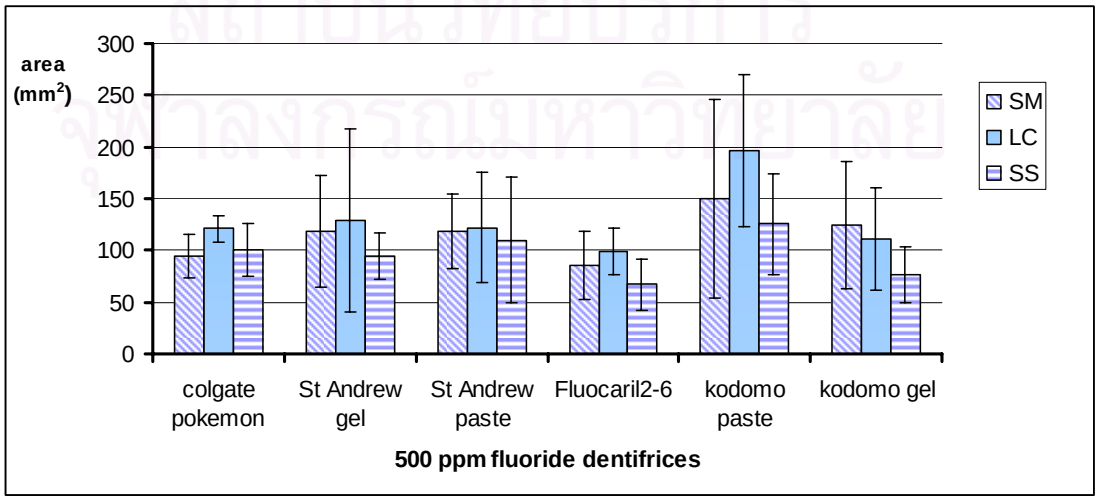
ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรดังนี้ คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 100.77± 25.53, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 94.02 ± 22.47, เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 109.84 ± 61.06, ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 67.16 ± 24.59, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 125.86 ± 48.67, โคโดโมไลอ้อน ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 76.10 ± 26.87

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

สรุป เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดัง*แผนภูมิที่ 1*

แผนภูมิที่ 1 การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด



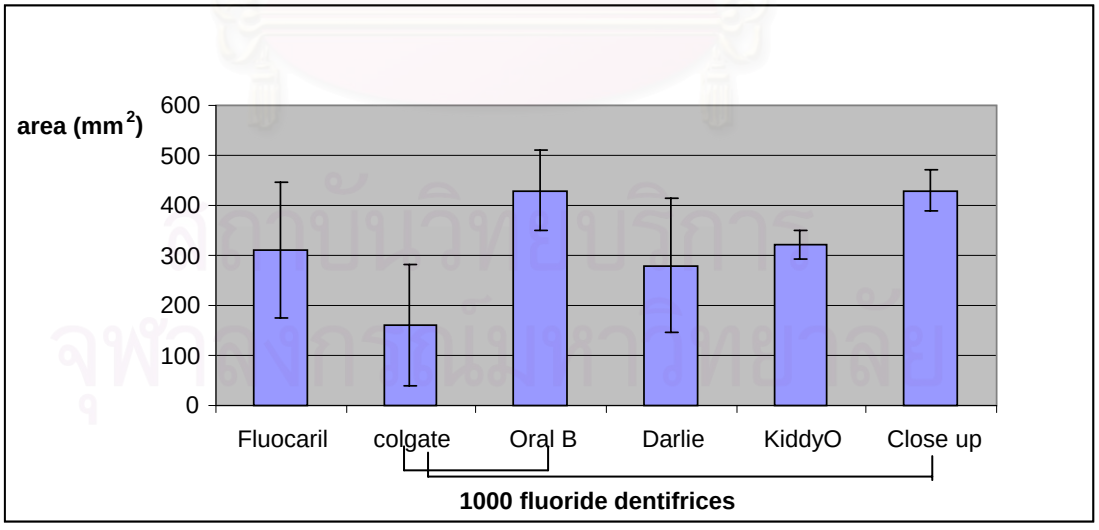
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรดังนี้ ฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 311.23 ± 136.16, คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 161.67 ± 120.61, ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์มีค่าเท่ากับ429.91 ± 79.06, ดาร์ลี่ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 279.55 ± 134.12, คิดดี –โอ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 321.29 ± 28.51 และใกล้ชิดชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 429.53 ± 40.37

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดพบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือ ออรัล- บี ทูธแอนด์กัมแคร์(429.91 ± 79.06) และใกล้ชิดชนิดเพสต์(429.53 ± 40.37) ยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์(161.67 ± 120.61) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดัง*แผนภูมิที่ 2*

แผนภูมิที่ 2 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด

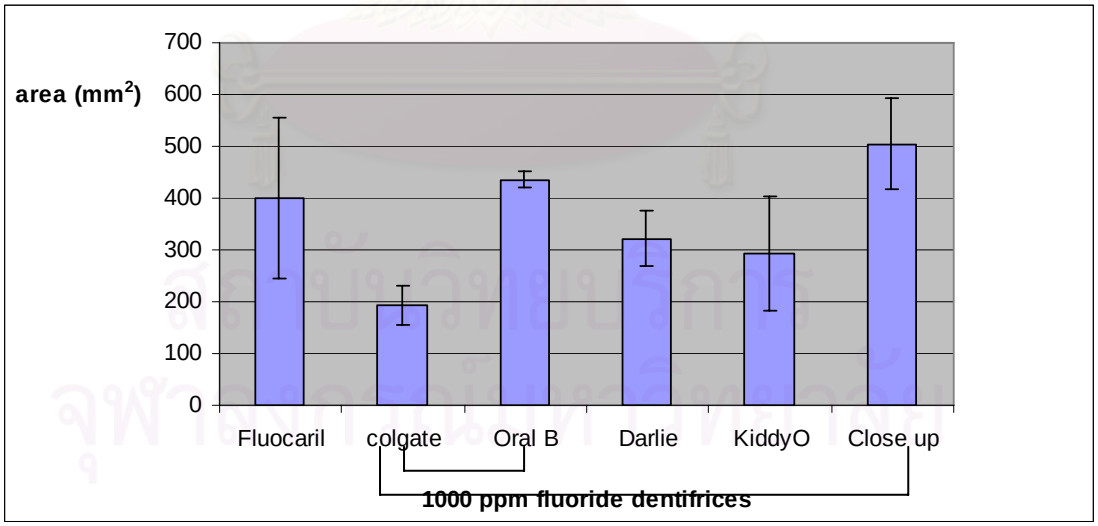


ผลการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรดังนี้ ฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 399.62 ± 156.32, คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 192.23 ± 37.44, ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์มีค่าเท่ากับ 435.07 ± 15.26, ดาร์ลี่ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 320.89 ± 53.60, คิดดี – โอ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 293.43 ± 109.67 และใกล้ชิดชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 504.53 ± 88.16

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดพบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือ ออรัล- บี ทูธแอนด์กัมแคร์(435.07 ± 15.26) และใกล้ชิดชนิดเพสต์(504.53 ± 88.16) ยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์ (192.23 ± 37.44) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดัง*แผนภูมิที่ 3*

แผนภูมิที่ 3 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด

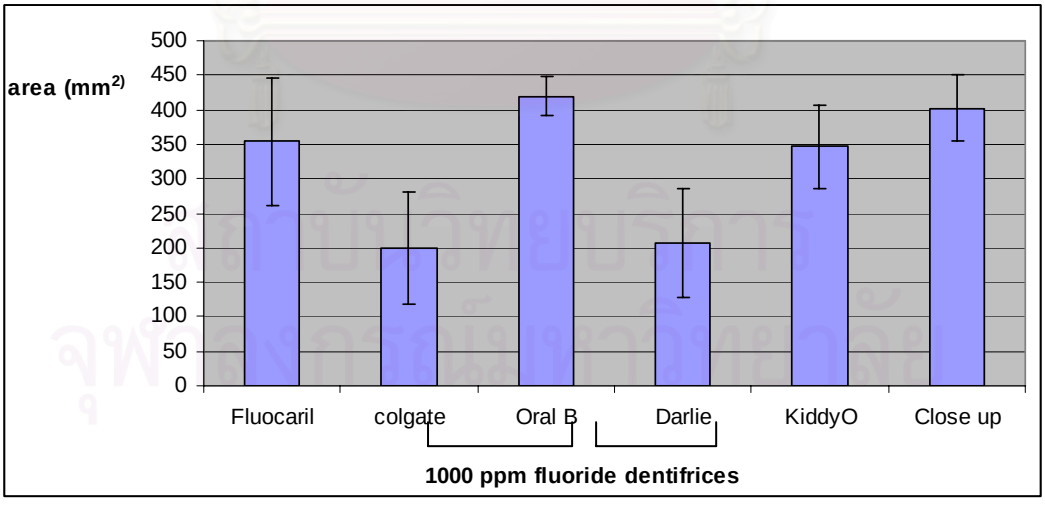


ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนซึ่งแสดงเป็นค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นมิลลิเมตรดังนี้ ฟลูโอคารีล ออริจินัล ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 353.59 ± 91.86, คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 199.27 ± 80.85, ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์มีค่าเท่ากับ 419.88 ± 27.89, ดาร์ลี่ ชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 207.06 ± 79.81, คิดดี – โอ ชนิดเจลมีค่าเท่ากับ 346.43 ± 60.16 และใกล้ชิดชนิดเพสต์มีค่าเท่ากับ 402.31 ± 48.65

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ตัวอย่าง พบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือออรัล- บีทูธแอนด์กัมแคร์(419.88 ± 27.89) ยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์ (199.27 ± 80.85) และ ดาร์ลี่ ชนิดเพสต์(207.06 ± 79.81) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดัง*แผนภูมิที่ 4*

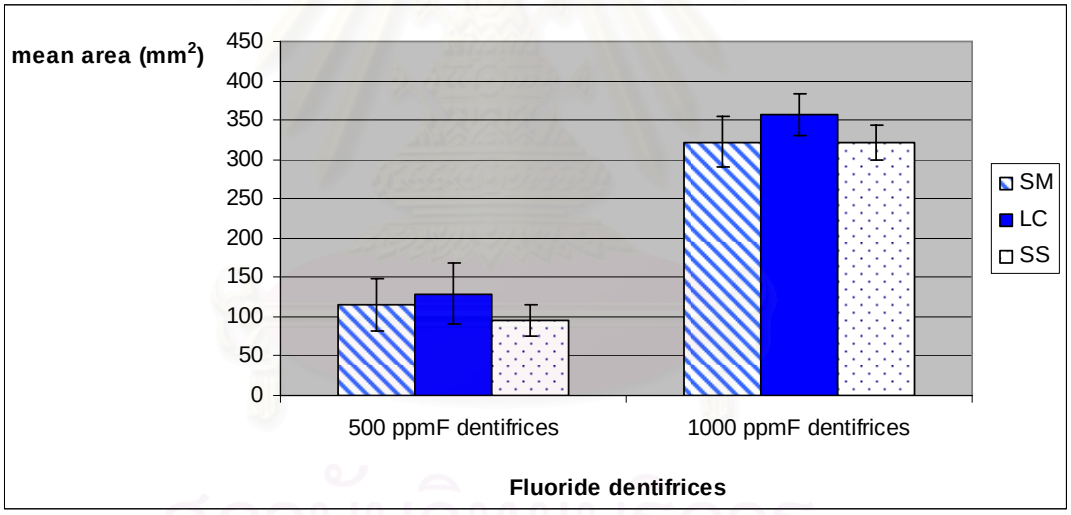
แผนภูมิที่ 4 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของ*เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด



การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ1000 ส่วนในล้านส่วน

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ1000 ส่วนในล้านส่วน ผู้วิจัยนำค่าแฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด มาเปรียบเทียบกับ ค่าแฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด ผลการเปรียบเทียบ พบว่าค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน($p<0.05$) ดัง*แผนภูมิที่ 5*

แผนภูมิที่ 5 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด

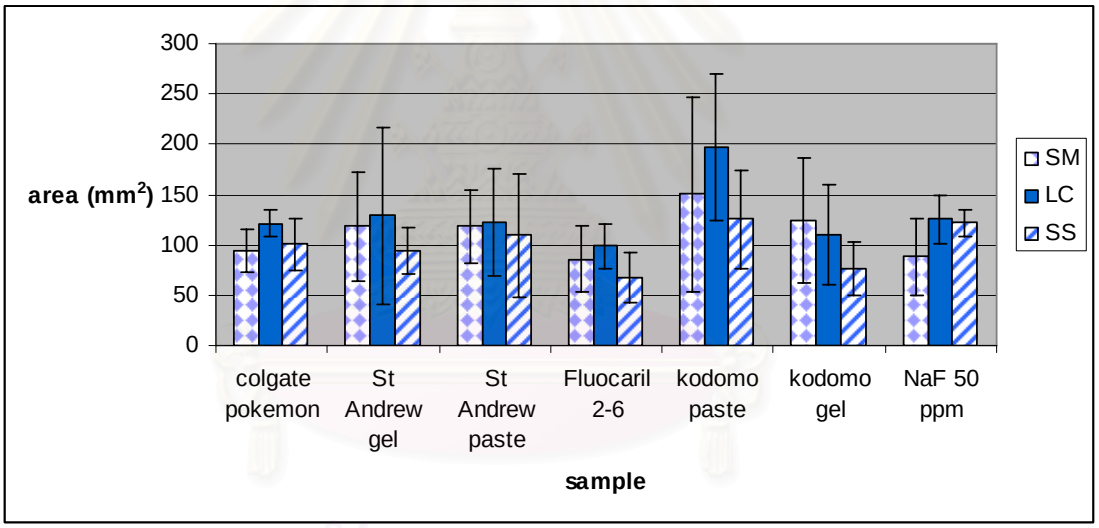


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนเปรียบเทียบกับสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน

ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p>0.05) เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ ดัง*แผนภูมิที่ 6*

แผนภูมิที่ 6 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด และสารลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน

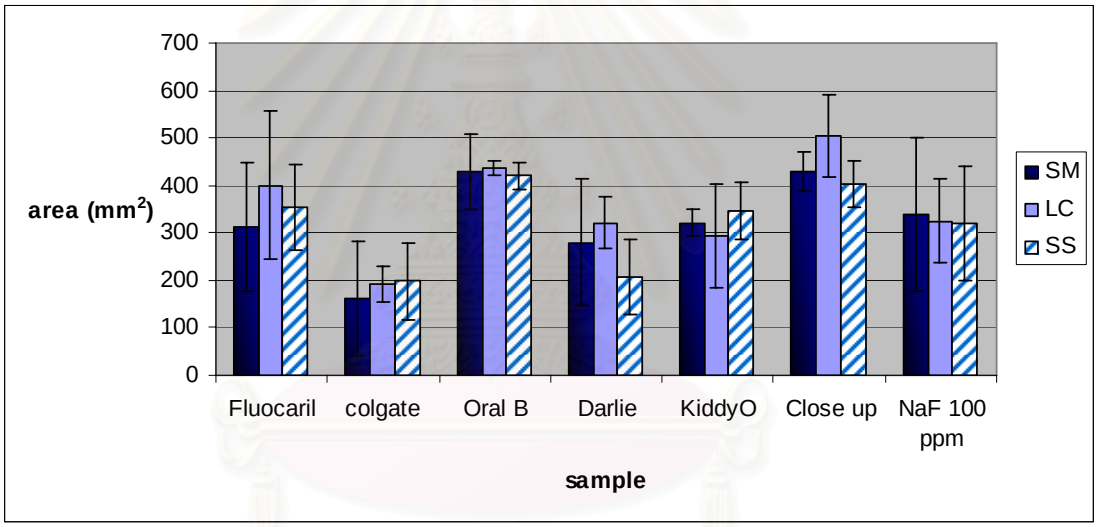


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนเปรียบเทียบกับสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วน

ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดัง*แผนภูมิที่ 7*

แผนภูมิที่ 7 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด และสารลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วน

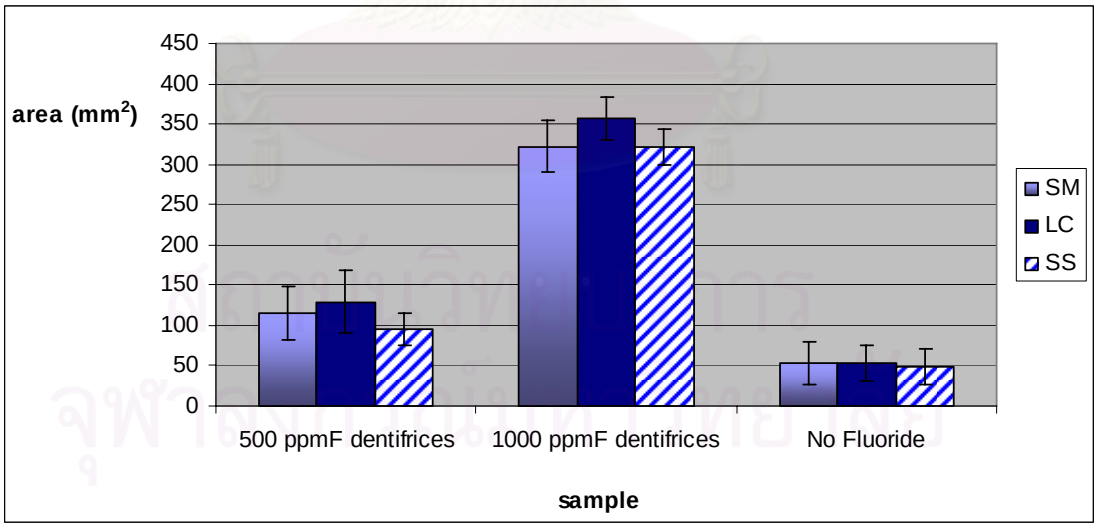


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 1000 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น1000 ส่วนในล้านส่วน และยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ ผู้วิจัยนำค่าแฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด และ ค่าแฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด มาเปรียบเทียบกับพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ ผลการเปรียบเทียบพบว่า ค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน และค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ ($p<0.05$) ดัง*แผนภูมิที่ 8*

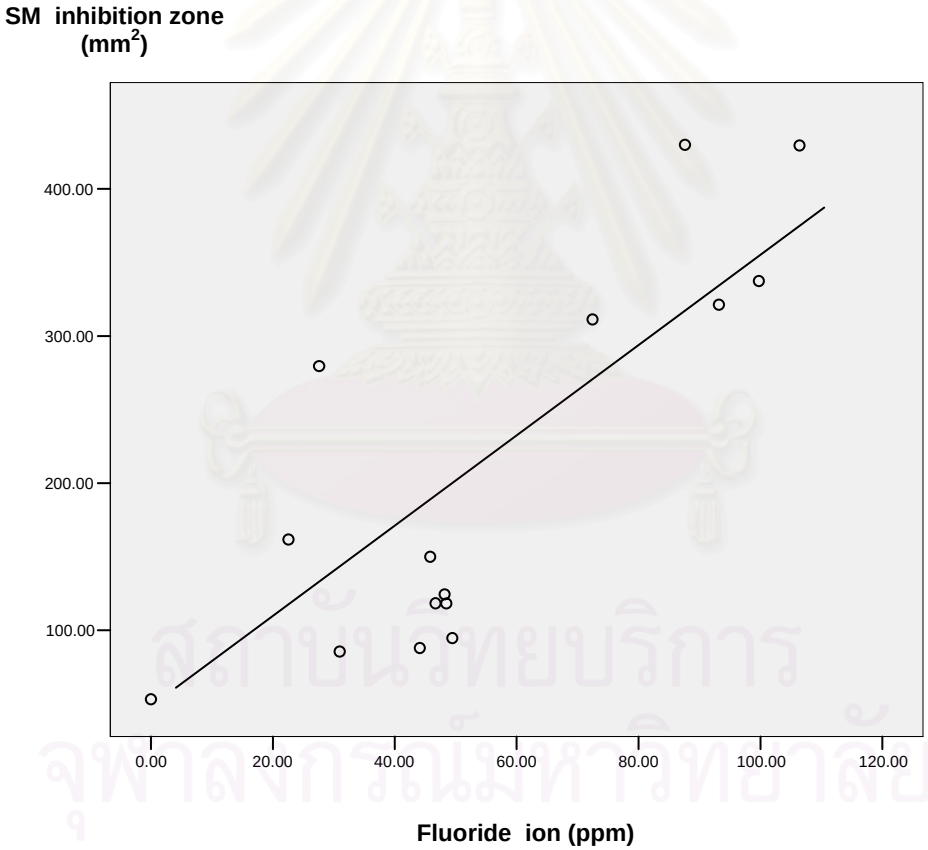
แผนภูมิที่ 8 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด, ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิดและยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์



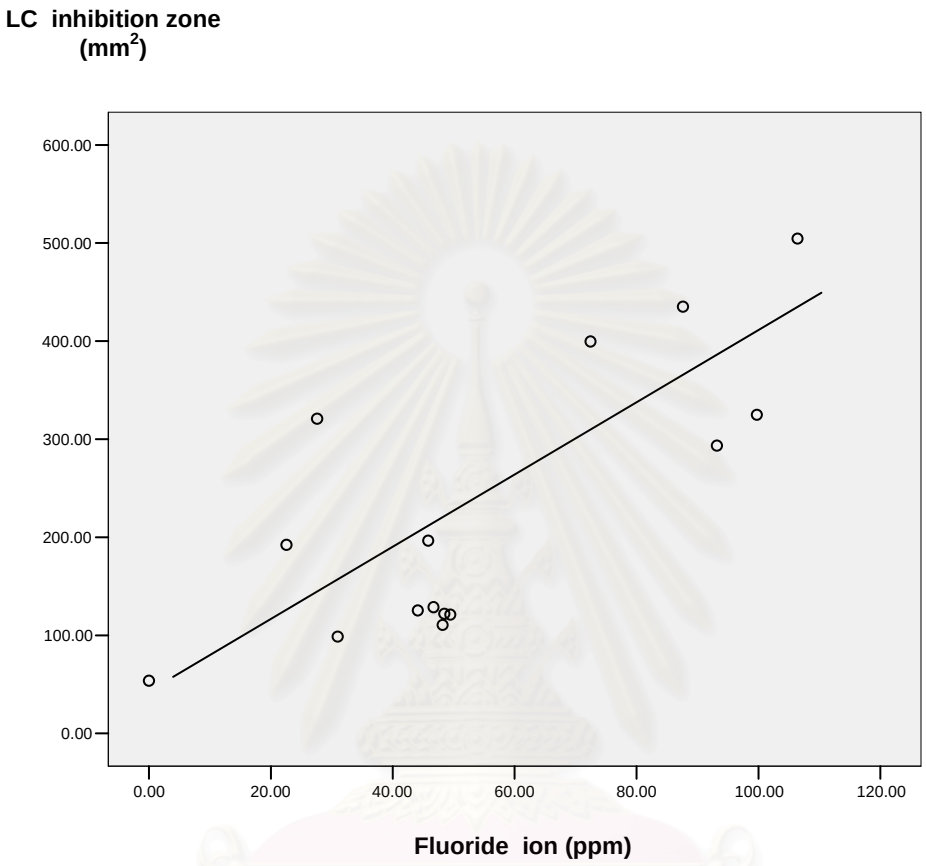
ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันและการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์กับพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* โดยมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.816, 0.765 และ 0.823 ตามลำดับ ดัง*แผนภูมิที่ 9-11*

แผนภูมิที่ 9 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*

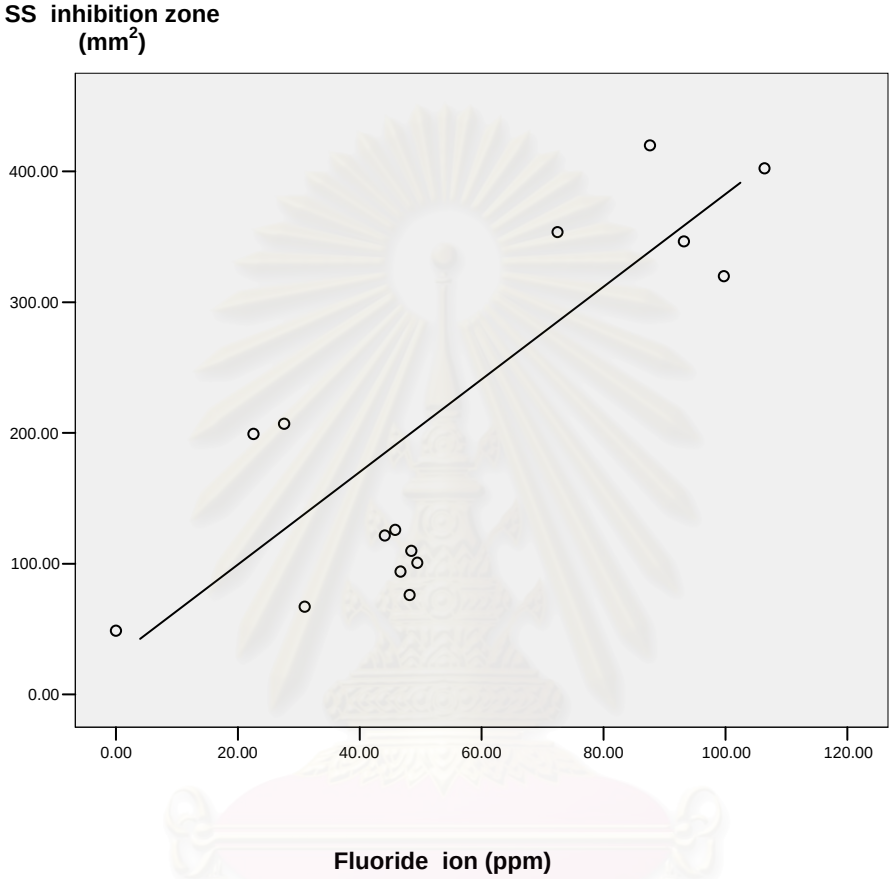


แผนภูมิที่ 10 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 11 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*



การทดสอบความเที่ยงของการวัด

การทดสอบความเที่ยงของการวัดความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันตัวอย่างในจานเพาะเชื้อด้วยสถิติ ทำโดยการวัดค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในจานเพาะเชื้อทั้งหมด 20 ตัวอย่างด้วยโปรแกรม Image pro plus® โดยวัดซ้ำ 2 ครั้งในเวลาที่ต่างกัน พบว่า ค่าที่วัดได้ทั้ง 2 ครั้งนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ(p>0.05) ซึ่งแสดงถึงความเที่ยงที่ยอมรับได้ของการวัด

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน โดยนำเชื้อที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดฟันผุ ได้แก่เชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ได้แก่ เชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* และเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* และเชื้อที่ทำให้เกิดการลุกลามของโรคฟันผุ ได้แก่ *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ซึ่งใช้สายพันธุ์มาตรฐานมาใช้ในการศึกษา ส่วนยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ผู้วิจัยได้เลือกยาสีฟันที่มีจำหน่ายในประเทศไทยทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้งหมด 6 ชนิด และ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้งหมด 6 ชนิด ซึ่งการคัดเลือกยาสีฟันดังกล่าวหลีกเลี่ยงส่วนประกอบที่มีคุณสมบัติในการยับยังเชื้อ เช่น ไตรโคลซาน ซิงค์ซิเตรต หรือสารสกัดจากสมุนไพร

วิธีการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้คือ การทดสอบโดยการแพร่ของสารยับยั้งเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันโดยทั่วไปในการประเมินความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ ส่วนการศึกษาวิจัยทางทันตกรรม วิธีนี้ได้ถูกนำมาใช้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของวัสดุและสารเคมีต่างๆทางทันตกรรมด้วย เช่นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของวัสดุที่ใช้อุดคลองรากฟัน หรือการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟลูออไรด์ชนิดเจลเฉพาะที่ที่ใช้โดยทันตแพทย์ โดยการนำวัสดุหรือสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นบนจานเพาะเชื้อ ซึ่งวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่เหมาะสมและง่ายต่อการเปรียบเทียบความแตกต่างของความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารที่ใช้ทดสอบ

ในการทดลองนี้ผู้วิจัยนำยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนมาทดสอบ โดยนำยาสีฟัน 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่น 10 เท่า เนื่องด้วยการใช้ยาสีฟันในเด็ก 2- 6 ปีจะใช้ปริมาณเพียง 0.5 กรัมต่อการแปรง 1 ครั้งและเมื่อยาสีฟันเข้าสู่ช่องปากจะเจือจางเหลือเพียงประมาณร้อยละ 22 ของความเข้มข้นเดิม หรือเจือจางลงประมาณ 5 เท่า (Duke และ Forward, 1982; Bruun, Givskov และ Thylstrup, 1984) ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงนำยาสีฟันตัวอย่าง 1 กรัมมาเจือจางเป็น 10 เท่า ซึ่งทำให้ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนเหลือประมาณ 50 ส่วนในล้านส่วน

และ 100 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่สามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคไคในช่องปากได้ในห้องปฏิบัติการคือความเข้มข้นระหว่าง 20-300 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะขึ้นอยู่กับสารประกอบฟลูออไรด์ที่นำมาทดสอบ ระดับความเป็นกรดด่าง และสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาทดสอบ (Brown และคณะ, 1980; Hamilton และ Bowden, 1996) สำหรับการศึกษานี้ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดเบรนฮาร์ท อินฟิวชัน ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และ แลคโตแบซิลไลสามารถเจริญได้ดี โดยมีค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับ 7.3 จากการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองได้เมื่อใช้ฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 50 ส่วนในล้านส่วนถึง 100 ส่วนในล้านส่วน

เนื่องจากประสิทธิภาพการป้องกันฟันผุของยาสีฟันฟลูออไรด์นั้นขึ้นกับความเสถียรของฟลูออไรด์ (availability) คือ การที่ฟลูออไรด์สามารถละลายน้ำออกมาอยู่ในรูปฟลูออไรด์ อิออนและสัมผัสอยู่ในช่องปากอย่างสม่ำเสมอ (Hashizume และคณะ, 2003) ดังนั้นผู้วิจัยจึงวิเคราะห์หาฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันทั้งหมด 12 ชนิด โดยมีจุดประสงค์เพื่อนำค่าฟลูออไรด์อิออนเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อพิจารณาความสัมพันธ์กับผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์

วิธีหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ใช้ในการศึกษานี้คือ การใช้ฟลูออไรด์อิเลกโทรด (Orion ionplus®) สารประกอบฟลูออไรด์ที่ผสมอยู่ในยาสีฟันที่อยู่ในรูปของโซเดียมฟลูออไรด์นั้น เมื่อนำมาละลายน้ำจะให้ฟลูออไรด์อิออนแตกตัวออกมาในสารละลายอย่างรวดเร็วและสามารถวัดได้ด้วยอิเลกโทรดหรือเครื่องวัดอิออนได้โดยตรง ส่วนสารประกอบอื่นได้แก่โมโนฟลูออโรฟอสเฟต เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวอยู่ในรูปฟลูออไรด์อิออนและเมตาฟลูออโรฟอสเฟต ซึ่งฟลูออไรด์ในรูปสารประกอบดังกล่าวไม่สามารถวัดออกมาโดยการละลายน้ำเพียงอย่างเดียว ต้องใช้วิธีอื่นๆเช่นการสกัดด้วยกรดเพอร์คลอริกเพื่อเกิดไฮโดรไลซิสมาเป็นฟลูออไรด์อิออน หรือสกัดด้วยสารประกอบเฮกซะเมทิลไดไซโลเซน (hexamethyldisiloxane) ซึ่งเป็นวิธีหาปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมดที่ระบุไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมยาสีฟัน (ต่อถาวรและคณะ, 2535; อ้างถึงใน ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมฉบับที่ 3462, 2549)

ผลการวิเคราะห์หาฟลูออไรด์อิออนในตัวอย่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ พบว่ามี 4 ใน 12 ชนิดที่มีค่าฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 80 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ฟลูออคารีล ออริจินัล ชนิดเพสต์, คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์, ดาร์ลี่ชนิดเพสต์ และ ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล โดยเป็นตัวอย่างในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 1 ชนิดและเป็นตัวอย่างในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 3 ชนิด ซึ่งผลการวิเคราะห์

ฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันที่พบในการศึกษานี้มีผลเช่นเดียวกับการศึกษาในปี 2005 ที่รายงานว่าปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันที่มีจำหน่ายในประเทศจีน พม่า เวียดนาม เนปาล ฟิลิปปินส์ ไซเรีย และโตโก นั้น มีตัวอย่างยาสีฟันร้อยละ 50 ที่มีฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 78 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด (van Loveren และคณะ, 2005) และเมื่อพิจารณาถึงสารประกอบฟลูออไรด์ที่มีใน ยาสีฟันทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวนี้พบว่าเป็นฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต หรืออยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ 50 รวมกับโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต ร้อยละ 50 ซึ่งผลการวัดค่าฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันดังกล่าวอยู่ระหว่างร้อยละ 22.57 - 72.45 ส่วนยาสีฟันที่อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ทุกชนิดนั้น วัดค่าฟลูออไรด์อิออนได้มากกว่าร้อยละ 80 ทั้งหมด ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารประกอบโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต สามารถละลายน้ำได้เป็นฟลูออไรด์อิออนได้น้อยกว่าสารประกอบโซเดียมฟลูอไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bruun, Givskov ในปี 1984 ซึ่งวิเคราะห์หาฟลูออไรด์ อิออนในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟตได้เพียงร้อยละ 3 ในขณะที่วัดค่าฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันที่ผสมฟลูออไรด์ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ได้ร้อยละ 96 และการศึกษาของ Hashizume และคณะในปี 2003 รายงานว่าค่าฟลูออไรด์ในรูปฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะมีค่าประมาณร้อยละ 13-20 นอกจากนั้นจะอยู่ในรูปของ เมตาฟลูออโรฟอสเฟต และในรูปของเกลือที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนการศึกษาทางคลินิกของ Duckworth และคณะในปี 1994 พบว่าเมื่อกลุ่มตัวอย่างใช้ยาสีฟันที่มีปริมาณฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้นเท่ากันแต่ฟลูออไรด์อยู่ในรูปสารประกอบที่ต่างกัน คือโซเดียมฟลูออไรด์ และสารประกอบ โซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต จะตรวจพบปริมาณฟลูออไรด์อิออนในคราบจุลินทรีย์ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในรูปของโซเดียมฟลูออไรด์มากกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในรูปของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าฟลูออไรด์ที่ตรวจพบในน้ำลายหลังการบ้วนปากด้วยสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 0.048 โมล มีค่ามากกว่าที่พบในน้ำลายของตัวอย่างที่บ้วนด้วยสารละลายโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้นเท่ากัน ถึง 13 เท่า (Erstrand,1997)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีสารประกอบฟลูออไรด์ โซเดียมฟลูออไรด์ และโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตในปัจจุบันนี้ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน บางการศึกษารายงานว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน (Paul และคณะ, 1993; Philip และคณะ, 1993) บางการศึกษารายงานว่าโซเดียมฟลูออไรด์มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุมากกว่า(Duckworth และคณะ, 1994) และมีรายงานว่าการรับฟลูออไรด์เข้าสู่ผิวเคลือบฟัน

(enamel fluoride uptake) จะมีค่าสูงที่สุดเมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ รองลงมา คือโซเดียมฟลูออไรด์รวมกับโมโนฟลูออโรฟอสเฟต และโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะมีค่าต่ำที่สุด (เอมอร และคณะ, 2543) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 550 ส่วนในล้านส่วนที่มีส่วนผสมของกรดฟอสฟอริกและมีค่าความเป็นกรดด่างระดับ 5.5 ซึ่งเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพของยาสีฟันโดยมีผลเพิ่มปริมาณฟลูออไรด์อิออนและเพิ่มปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้โดยลดระดับความเป็นกรดด่างของยาสีฟันลง ผลการศึกษาพบว่ายาสีฟันดังกล่าวสามารถยับยั้งการสูญเสียแร่ธาตุบนผิวเคลือบฟันได้เท่ากับ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วนที่มีค่าความเป็นกรดด่างระดับ 7 (Brighenti และคณะ, 2006) และในปี 2008 Toda และ Featherstone รายงานว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งยังไม่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสจะมีประสิทธิผลต่อความแข็งของผิวเคลือบฟันได้เท่ากับโซเดียมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้นเพียง 30 ส่วนในล้านส่วนเท่านั้น

สาเหตุที่ทำให้การคงอยู่ของฟลูออไรด์ในช่องปากของโซเดียมฟลูออไรด์สูงกว่าโซเดียมโมโนฟูออโรฟอสเฟต อาจเป็นเพราะโซเดียมฟลูออไรด์สามารถแตกตัวให้ฟลูออไรด์อิออนได้เร็วกว่าสารประกอบเมตาฟลูออโรฟอสเฟต ซึ่งฟลูออไรด์อิออนจะจับกับเนื้อเยื่อในช่องปากได้ดี (oral retention site) นอกจากนี้ฟลูออไรด์อิออนจะจับตัวเป็นสารประกอบแคลเซียมฟลูออไรด์ได้ง่ายเมื่อเข้าสู่ช่องปากในขณะที่เมตาฟลูออโรฟอสเฟตจะแตกตัวให้ฟลูออไรด์อิออนได้ไม่สมบูรณ์ซึ่งทำให้ปริมาณฟลูออไรด์ที่วัดได้มีค่าน้อย เหตุผลอีกประการหนึ่ง คือ ฟลูออไรด์อิออนมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ในน้ำสูงกว่าเมตาฟลูออโรฟอสเฟต และฟลูออไรด์อิออนจะแพร่จากยาสีฟันเข้าสู่น้ำลายและคราบจุลินทรีย์ได้ในเวลาที่น้อยกว่า 1 นาที (Duckworth และคณะ, 1994) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ในการทดลองนี้ที่ฟลูออไรด์อิออนจะสามารถแพร่ผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นไปมากกว่าฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปเมตาฟลูออโรฟอสเฟต

ผลการศึกษาเรื่องความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในปัจจุบันยังมีจำกัด ในปี 2000 Modesto และคณะ รายงานว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ซึ่งอยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นมากกว่ายาสีฟันที่มีส่วนผสมของสมุนไพรสกัดคาเลนดูราและยาสีฟันที่ประกอบด้วยเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส และ กลูโคสออกซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) ทั้งนี้วิธีการศึกษาดังกล่าวใช้ตัวอย่างยาสีฟันที่ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์โดยไม่ได้วัดฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์เหมือนการศึกษานี้

ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนและความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์โดยพิจารณาจากพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นนั้นมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่ายาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้ปริมาณมากจะมีผลในการยับยั้งเชื้อได้มากด้วย

กลไกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟลูออไรด์นั้นเกิดขึ้นเมื่อฟลูออไรด์เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียซึ่งฟลูออไรด์จะเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียในรูปไฮโดรเจนฟลูออไรด์ ซึ่งเกิดจากฟลูออไรด์อิออนโดยปฏิกิริยา $H^+ + F^- \longleftrightarrow HF$ (Cimasoni, 1972 ; Hamilton, 1990; Marquis, 1990)ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของแบคทีเรียนี้ ฟลูออไรด์อิออนจะจับกับเอนไซม์ของแบคทีเรียโดยตรง หรือการยับยั้งขบวนการโปรตอนเอกทรูดิงเอทีพีเอส กลไกเหล่านี้อาศัยฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปของฟลูออไรด์ อิออนทั้งสิ้น ดังนั้นยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้มากจึงอาจมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากเช่นกัน

การศึกษาผลของยาสีฟันฟลูออไรด์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนี้พบว่า ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุทั้งสามสายพันธุ์ได้ไม่แตกต่างกันภายในกลุ่ม ($p>0.05$) ส่วนผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันที่ผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกันภายในกลุ่ม ($p<0.05$) อาจเนื่องมาจากยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนมีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนได้ในปริมาณที่แตกต่างกันไปโดยมีถึง 3 ใน 6 ชนิด ที่มีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้ออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนได้น้อยกว่าร้อยละ 80 ของฟลูออไรด์ทั้งหมดที่ปรากฏบนฉลากยาสีฟัน ได้แก่ ฟลูออคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์, คอลเกตรสยอดนิยม และดาร์ลี่ชนิดเพสต์

เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้มากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

การศึกษานี้นำสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนและ 100 ส่วนในล้านส่วนมาเป็นสารควบคุมเชิงบวกด้วย เนื่องจากสารละลายดังกล่าวไม่มีส่วนผสมของสารเสริมอื่นๆที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วนกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ เปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วนกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนซึ่งเป็นความเข้มข้นเท่ากับยาสีฟันที่นำมาทดสอบ

พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน(p>0.05) ส่วนยาสีฟันที่ไม่ผสมฟลูออไรด์ก็สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้เช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์นั้นมีส่วนประกอบอื่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น โซเดียมลอริลซัลเฟตซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดฟองในยาสีฟันนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างพอลิแซกคาไรด์ของแบคทีเรียนอกจากนี้ยังมีสารกันเสียอื่นๆที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเช่น เมทิลพาราเบนเป็นต้น(American Dental Association, 1982) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ ทั้ง 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้มากกว่า (p<0.05) จึงอาจกล่าวได้ว่าผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารอื่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในยาสีฟันไม่ได้เป็นตัวหลักในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมากไปกว่าฟลูออไรด์

เป็นที่น่าสังเกตในการทดลองนี้ว่ายาสีฟัน 500 ส่วนในล้านส่วนที่มีฟลูออไรด์อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต คือ เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์และชนิดเจล โคโดโม ไลออน ชนิดเพสต์ มีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้มากกว่าร้อยละ 80 และสามารถยับยั้งเชื้อได้มากเท่ากับยาสีฟันยี่ห้ออื่นๆในกลุ่ม ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน ผลการยับยั้งเชื้อที่มากขึ้นอาจเป็นเพราะยาสีฟันทั้งสามชนิดนี้มีส่วนประกอบที่ต่างจากยาสีฟันชนิดอื่น ได้แก่น้ำตาลไซลิทอล โดยเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์และชนิดเจลมีส่วนประกอบของน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก และโคโดโม ไลออนชนิดเพสต์ มีส่วนประกอบของน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าน้ำตาลไซลิทอล 2.8 โมลหรือ ร้อยละ 35 โดยน้ำหนักสามารถลดอัตราการสร้างกรดของแบคทีเรีย(Bradhaw, Marsh, 1994) และการศึกษาที่พบว่าน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 10-15 โดยน้ำหนักสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ในจานเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ(Robert และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทางคลินิกที่พบว่าการเติมน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ10โดยน้ำหนักลงในยาสีฟันสามารถลดระดับ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ในน้ำลายได้อย่างมีนัยสำคัญ(Svanberg และ Berkhed, 1991; Jannesson, Renvert และ Birkhed, 1997) ทั้งนี้โคโดโม ไลออน ชนิดเพสต์ ซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุดในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอาจเนื่องมาจากผลการยับยั้งเชื้อเสริมจากน้ำตาลไซลิทอล ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อจากน้ำตาลไซลิทอลที่มีปริมาณเท่ากับส่วนประกอบที่มีในยาสีฟันที่จำหน่ายในประเทศไทยต่อไป

เมื่อพิจารณาถึงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Modesto และคณะในปี 2000 ซึ่งพบว่าเมื่อเปรียบเทียบเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ เชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*

และ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* ถูกยับยั้งด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วน น้อยกว่า *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* อาจเนื่องมาจากการทดลองนี้ใช้แบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ที่ปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากับ 1–1.5 x10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยที่ความขุ่นของเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ไม่เท่ากัน ซึ่งไม่ได้ใช้วิธีการปรับปริมาณเชื้อโดยใช้เทียบกับความขุ่นของสารสเกลของแมคฟาแลนด์เหมือนการทดลองอื่นๆ (Modesto และคณะ, 2000; Lee Zhang, 2004) และยังพบว่าในปริมาณเชื้อที่เท่ากันของแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้มีความขุ่นของเชื้อที่เท่ากัน ดังนั้นการปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากันโดยใช้การนับจำนวนโคโลนีน่าจะเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมมากกว่า

ผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงข้อสรุปในเบื้องต้นเท่านั้นว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุโดยการใช้ฟลูออไรด์เฉพาะที่ต่อไป ซึ่งเป็นกลวิธีหนึ่งในการป้องกันฟันผุ โดยการกำจัดปัจจัยของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดฟันผุ

อย่างไรก็ดีการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดเนื่องด้วยเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งไม่สามารถเลียนแบบสภาวะในช่องปากได้เช่น ฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟต เมื่ออยู่ในช่องปากเป็นฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำอยู่ในรูปของเมตาฟลูออโรฟอสเฟตจะสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสอย่างรวดเร็วเกิดเป็นฟลูออไรด์อิออนในช่องปากและออโทฟอสเฟต(orthophosphate)โดยเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสของแบคทีเรีย (Hashizume และคณะ, 2003) การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนี้ขึ้นกับระดับความเป็นกรดด่างด้วย จากการศึกษาพบว่าเมตาฟลูออโรฟอสเฟตจะแพร่ผ่านคราบจุลินทรีย์ลงไปลึก 0.51 มิลลิเมตรและสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจนเกือบสมบูรณ์ที่ความเป็นกรดด่างระดับ 8(Pearce และ Dibdin, 2003) ซึ่งฟลูออไรด์อิออนดังกล่าวอาจมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไปได้ นอกจากนี้แบคทีเรียที่อยู่ในช่องปากจะอยู่รวมกันเป็นแผ่นชีวภาพซึ่งสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่จำกัดได้มากกว่าและทนต่อสารต้านแบคทีเรียในความเข้มข้นที่สูงกว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงไม่สามารถนำผลการศึกษาครั้งนี้ไปสรุปขยายผลทางคลินิกได้โดยตรง

การคำนึงถึงการเลือกใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆกันนั้น ต้องคำนึงถึงประโยชน์และความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้น คือการได้รับฟลูออไรด์เกินขนาดในเด็กเล็กซึ่งไม่สามารถควบคุมการกลืนได้ โดยเฉพาะในเด็กก่อนวัยเรียน พบว่ากลืนยาสีฟันไปประมาณร้อยละ 25-50 ของปริมาณที่ใช้ (Steven, 1993) จากผลการศึกษานี้พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุได้มากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน จึงอาจนำไปเป็นข้อพิจารณาในการเลือกยาสีฟันสำหรับเด็กก่อนวัยเรียนโดยแนะนำให้ใช้

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนในรายที่มีการประเมินว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงอันเนื่องมาจากปัจจัยของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งตรงกับคำแนะนำของสมาคมทันตแพทย์สำหรับเด็กแห่งสหราชอาณาจักร (British Society of Pediatric Dent, 1996) ที่แนะนำเด็กอายุต่ำกว่า 6 ปีที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงให้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วน ทั้งนี้ควรให้คำแนะนำอย่างระมัดระวังเกี่ยวกับปริมาณยาสีฟันที่ใช้ โดยผู้ปกครองต้องเข้าใจและสามารถป้องกันความเสี่ยงที่จะได้รับฟลูออไรด์เกินหากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม และควรมีการศึกษาต่อไปในระดับคลินิกถึงประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ และฟลูออไรด์เฉพาะที่ในระดับความเข้มข้นของฟลูออไรด์ต่างๆกันต่อไป และจากการศึกษานี้พบว่าปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อการละลายน้ำออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไปเช่นกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการวิจัย

1. ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
2. ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนี้

   การยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์* ของ ออรัล- บี ทูธแอนด์กัมแคร์ และ ใกล้ชิดชนิดเพสต์ มากกว่า คอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์

   การยับยั้งเชื้อ*แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*ของ ออรัล- บี ทูธแอนด์กัมแคร์ และ ใกล้ชิดชนิดเพสต์ มากกว่า คอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์

   การยับยั้งเชื้อ*สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ของ ออรัล- บี ทูธแอนด์กัมแคร์ มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดเพสต์ และ ดาร์ลี่ชนิดเพสต์
3. เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ* และ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส* ได้มากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุควรมีการศึกษาในรูปแบบการจำลองของแผ่นชีวภาพหรือศึกษาทางคลินิกต่อไป เพื่อนำผลการศึกษามาขยายผลในประชากรมนุษย์ได้ต่อไป

2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ก่อให้เกิดฟันผุระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนในการศึกษานี้พบว่าให้ผลแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาต่อไปเพื่อเปรียบเทียบในแง่ของผลของเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เช่นการลดความสามารถในการสร้างกรดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในช่องปากเพิ่มขึ้น เอื้อต่อการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศในช่องปากให้เหมาะสมกับเชื้อที่ไม่ก่อให้เกิดโรคและส่งเสริมให้เกิดการคืนกลับของแร่ธาตุในผิวเคลือบฟันต่อไปได้ หรือการศึกษากลายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุซึ่งทำให้ไวต่อสารต้านแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็นต้น

รายการอ้างอิง

กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย สาธารณสุข, กระทรวง. รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 5 พ.ศ. 2544-2545

กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย สาธารณสุข, กระทรวง. คู่มือการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพช่องปาก 2547

จีรศักดิ์ นพคุณ. (2527). Antimicrobial effects of fluoride. ว. ทันต จุฬา 34(3) :161-165.

จีรศักดิ์ นพคุณ. (2529). The effect of fluoride on acid production of streptococcus Mutans, BHT. ว.ทันต จุฬา 9(2): 85-94.

ต่อถาวร จันทามงคล, บุญชัย พรหมยารัตน์, รังสรรค์ จิรังษีวัฒนาและ จีรศักดิ์ นพคุณ. (2535) การวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมดในยาสีฟันโดยวิธี acid diffusion. ว.ทันต จุฬา 15(1): 27-32.

ธีรศักดิ์ ถาวรทนต์, สุพาณี บูรณธรรม, สุรศักดิ์ บุญญาศิริรัตน์, ธงชัย วัฒนาศิริธนวงศ์, กฤษดา เรืองอารรัตน์, นพปฎล จันทร์ผ่องแสงและ วิไลรัฐ พิศลยบุตร. (2529) ผลของโซเดียมฟลูออไรด์ต่อการเกิดกรดแลคติกในช่องปาก. ว.ทันต จุฬา 9(1): 11-15.

อุตสาหกรรม, กระทรวง. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมยาสีฟัน. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมฉบับที่ 3462 (พ.ศ. 2549). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 123 ตอนที่ 31 ง (23 มี.ค49) หน้า 82. (อัดสำเนา)

เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย, สุพจน์ ตามสายลม, บรูซ อาร์ สเคมีฮอร์น, จอร์จ เค สตูกี. (2543) การศึกษาผลของฟลูออไรด์ในห้องปฏิบัติการจากยาสีฟันที่มีจำหน่ายในประเทศไทย .ว. ทันต 50(3): 186-192.

American Dental Association. (1982). Accepted dental therapeutics : drugs used in dental practice, including a list of brands accepted by the council on dental therapeutics of the American Dental Association. 39th ed. Chicago : American Dental Association,

Ammari, A. B., Bloch-Zupan, and Ashley, P. F. (2003). Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1000 ppm or above. Caries Res 37: 85-92.

Balakrishnan, M., Simmonds, R. S., and Tagg, J.R. (2000) Dental caries is a preventable infectious disease. Austr Dent J 45(4): 235-245.

Barzar, E. S., Linder, L. E., and Sund, M. L. (2001). Effect of fluoride on glucose in corporation ad metabolism in biofilm cells of S.mutans. J Oral Sci 109(3): 182-186.

Beighton, D., McDougall, W. A. (1977). The effects of fluoride on the percentage bacterial composition of dental plaque on caries incidence and on the in vitro growth of Streptococcus mutans, Actinomyces viscosus and Actinobacillus sp. J Dent Res 56: 1185- 1191.

Bruun, C., Givskpv, H., Thylstrup, A. (1984). Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. Caries Res 18: 282-288.

Biesbrock, A. R., Bartizek, R. D., Gerlach, R. W., Jacobs, S. A., and Archila, L. A. (2003). Dose response efficacy of sodium fluoride dentifrice at 9 and 12 months with a supervised brushing regimen. Am J Dent 16: 99-104.

Bowden, G. H. W. (1990). Effect of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. J Dent Res 69(Spec Iss): 653-659.

Bradhaw, D.J., Marsh, P.D. (1994). Effect of sugar alcohols on the composition and metabolism of a mixed culture of oral bacteria grown in a chemostat. Caries Res 28(4): 251-256.

Bradhaw, D. J., Marsh, P. D., Hodgson, R. J., and Visser, J. M. (2002). Effect of glucose ang fluoride on compitition and metabolism with in vitro dental bacterial communities and biofilm. Caries Res 36: 81-86.

Bratthal, D. and Peterson, G. H. (2005). Cariogram-a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. Community Dent Oral Epidemiol 33: 256-261.

Brighenti, F.L., Delbem, A.C.B., Buzalaf, M.A.R., Oliveira, F.A.L. (2006). In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride Content. CariesRes 40: 239-244.

British Society of Pediatric Dentistry. (1996). A policy document on fluoride dietary supplements and fluoride toothpastes for children. Int J Pediatr Dent. 6: 139-142.

Brown, L. R., Handler, S. F., and Horton, I. (1980). Effect of NaF on the viability and growth of S.mutans. J Dent Res 59(2):159-167.

Burt, B. A. (1992). The changing patterns of systemic fluoride intake. J Dent Res 71: 1228-1167.

Caufield, P. W., Cutter, G. R., and Dasanayake, A. P. (1993). Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res 72: 37-45.

Cimasoni, G. (1972). The inhibition of enolase by fluoride in vitro. Caries Res 6: 93-102.

Clarkson, B. H. (1999). Introduction to cariology. Dent Clin North Am 43(4): 569-578.

Dominick, T. Z. (1999). Dental caries process. Dent Clin North Am 43(4): 635-664.

Duckworth, R. M., Jones, Y., and Nicholson, J. (1994). Studies on plaque fluoride after use of fluoride containing dentifrices. Adv Dent Res 8(2): 202-207.

Duke, S.A., Forward, G.C. (1982). The Conditions Occurring in vivo when Brushing with Toothpastes. Br Dent J 152: 52-54.

Eisenberg, A. D., Bender, G. R., and Marquis, R. E. (1980). Short communications reduction in the aciduric propertis of the oral bacterium streptococcus mutans GS-5 by fluoride. Archs oral Biol 25: 133-135.

Ekstrand J. (1997). Fluoride in plaque fluid and saliva after NaF or MFP rinses. Eur J Oral Sci 105: 478-484.

Eugenio, D. B. and Susan, M. S. (1988). Fluoride in toothpastes for children: suggestion for change. Pediatr Dent 10(3): 185-188.

Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res 38: 182-191.

Hamilton, I. R. (1990). Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. J Dent Res69(Spec Iss): 660-667.

Hamilton, I. R. and Bowden, G. H. W. (1996). Fluoride in Dentistry 3rd edition Fluoride effects on oral bacteria Fluoride in dentistry chapter 13: 230-251.

Hamilton, I. R. and Ellwood, D. C. (1978). Effects of fluoride on carbohydrate metabolism by washed cells of S.mutans grown at various pH values in a chemostat. Infect Immune 19: 434-442.

Hashizume, L. N., Oliveiralima, Y. B., Kawaguchi, Y., and Cury, J. A. (2003). Fluoride availability and stability of Japanese dentifrices. J Oral Science 45(4): 193-199.

Hicks, J., Garcia-Godoy, F., and Flaitzc. (2003). Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization. J Clin Pediatr Dent 28(1): 47-52.

Horowitz, HS. (1992). The need for toothpastes with lower than conventional fluoride concentration for preschool- aged children. J Public Health Dent 52:216-221.

Itatevossian, A. (1990). Fluoride in dental plaque and its effects. J Dent Res 69(Spec Iss): 645-652.

Itthagarun, A. and Wei, S. H. Y. (1996). Analysis of fluoride ion concentration and in vitro fluoride uptake from different commercial dentrifrices. Int Dent J 46: 357-361.

Jannesson, L., Renvert, S., and Birkhed, D. (1997). Effect of xylitol in an enzyme-containing dentifrice without sodium lauryl sulfate on mutans streptococci in vivo. Acta Odontol Scand. 55(4):212-216.

Jones, S., Burt, B. A., Peterson, P. E., and Alennon, M. (2005). The effective use of fluorides in public health. Bulletin of the WHO 83(9): 670-676.

Kidd, E. A. M. and Fejerskov, O. (2004). What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. J Dent Res 83(Spec Iss): C35- C38.

Lee, S. S., Zhang, W. (2004). The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study. J Am Dent Assoc. 135(8): 1133-1141.

Lynch, R. J. M., Navada, R., and Walia, R. (2004). Low levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralization and remineralization of enamel ; role of fluoride toothpastes. Int Dent J 54: 304-309.

Maltz, M., Emilson, C.G. (1982). Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. J Dent Res 61: 786-790.

Marquis, R. E. (1990). Diminished acid tolerance of plaque bacteria caused by fluoride. J Dent Res 69(Spec Iss): 672-675.

Marsh, P.D. (1993). Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. Caries Res 27(suppl 1): 72-76.

Marsh, P. D. (1999). Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. Dent Clin North Am 43(4): 599-614.

Marsh, P. D. and Bradhaw, D. J. (1990). The Effect of Fluoride on the Stability of Oral Bacterial Communities in vitro. J Dent Res69(Spec Iss): 668-671.

Mayhew, R. R. and Brown, L. R. (1981). Comparative effect of SnF_2, NaF, $Sncl_2$ on the growth of S.mutans. J Dent Res 60(10): 1809-1814.

Modesto, A., Lima, K. C., and Useda, M. D. (2000). Effects of three different infant dentifrices on bofilms and oral microorganisms. J Clin Pediatr Dent 24(3): 23-243

National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (1997). 5th ed. Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow anaerobically.

Paul, F.D., Pramod, M.S., Triol, C., Anthony, R.V., Garcia, L., Duffy, J., Vaughan, B. (1993). The relative anticaries effectiveness of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride as contained in currently available dentifrice formulations. Am J Dent 6(Spec Iss) : S7-S12.

Pearce, E.I.F., Dibdin, G.H. (2003). The effect of pH, temperature and plaque thickness on the hydrolysis of monofluorophosphate in experimental dental plaque. Caries Res 37:178-184.

Petersen, P. E. and Lenon, M. A. (2004). Effective use of fluoride for the prevention of dental caries in the 21th Century : the WHO approach. Community Dent Oral Epidermiol 32: 319-321.

Philip, J.H., Helen, V.W. (1993). Sodium fluoride or sodium monofluorophosphate? A critical review of a meta-analysis on their relative effectiveness in dentifrices. Am J Dent 6(Spec Iss) : S55-S58.

Roberts, M.C., Riedy, C.A., Coldwell, S.E., Nagahama, S., Judge, K., Lam, M., Kaakko, T., Castillo, J.L., Milgrom, P. (2002). How xylitol-containing products affect cariogenic bacteria. J Am Dent Assoc 133(4): 435-41.

Seow, W. K. (1998). Biological mechanisms of early childhood caries. Community Dent Oral Epidermiol 26 (suppl 1): 8-27.

Sjogren, K., Birkhed, D., and Rangmar, B. (1995). Effect of modified toothpaste technique on approximal caries in preschool children. Caries Res 29: 435.

Steinberg, S. (2002). A paradigm shift in the treatment of caries. Gen Dent 50(4): 333-338.

Steven, M. (1993). A review of fluoride intake from fluoride dentifrice. J Dent Child 60(2): 115-124.

Steven, M. (1999). Total fluoride intake and implications for dietary fluoridate supplementation. J Public Health Dent 59(4): 211-223.

Steven, M. A., William, H. B., Brain, A. B., Jayanth, V. K., Steven, M. L., David, G. P., Gary, R., Robert, H. S., John, W. S., George, K. S., and Gary, M. W. Caries for Disease Control and Prevention (CDC). (2001). Recommendation for using fluoride to prevent and control dental caries in United States. MMWR 50: 1- 42.

Steven, M. A., William, P., and Carole, M. (1997). Comparison of the use of a child and an adult dentifrice by a sample of preschool children. Pediatr Dent 19(2): 99-103.

Steven, M. L. and Thomas, J. M. (1992). A pilot study of preschoolers' use of regular- flavored dentifrices and those flavored for childen. Pediatr Dent 14: 388-391.

Stookey, G. K., Mau, M. S., and Isaacs, R. L. (2004). The relative anticaries effectiveness of three fluoride containing dentifrices in Pueto Rico. Caries Res 38: 542- 550.

Svanberg, M., Berkhed, D. (1991). Effect of dentifrices containing either xylitol and glycerol or sorbitol on mutans streptococci in saliva. Caries Res 25:449-453.

Tanzer, J. M. (1995). Dental caries is a transmissible infectious disease : The Keyes and Fitzgerald revolution. J Dent Res 74: 1536-1542.

Toda, S., Featherstone, J.D. (2008). Effects of fluoide dentifrices on enamel lesion formation. J Dent Res 87(3):224-227.

van Loveren, C., Lammens, A. J., and ten cate, J. M. (1989). In vitro induced fluoride resistance of strepococcus mutans and dental caries in rats. Caries Res 23: 358 -361.

van Loveren, C. (1990). The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. J Dent Res69(Spec Iss): 676-681.

van Lovreren, C. (2001). Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance : Identification of research questions. Caries Res 35(Suppl 1): 65-70.

van Lovren, C., Moorer, W.R., Buijs M.J., van Palenstein Helderman, W.H. (2005). Total and free fluoride in toothpastes from some non-established market economy countries.

CariesRes 39: 224-230.

Watson, P. S., Pontefract, H. A., Devine, D. A., Shore, R. C., Nattress, B. R., Kirkham, J., and Robinson, C. (2005). Penetration of fluoride into natural plaque biofilms. J Dent Res 84(5): 451-455.

Whiley, R.A., Beighton, D. (1998). Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol Immunol 13:195-216.

White, D. J. and Nancollas, G. H. (1990). Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. J Dent Res 69(Spec Iss): 587-594.

White, D. J., Cox, E. R., and Gwynn, A. V. (1995). Effect of a stabilized stannous fluoride dentifrice dentifrice on plaque acid (toxin) production. J Clin Dent 6: 84-88.

Winter, G. B., Holt, R. D., and Williams, B. F. (1989). Clinical trial of a low- fluoride toothpaste for young children. Int Dent J 39: 227-235.

Zimmer, S. (2001). Caries- Preventive effects of fluoride products when used in conjunction with fluoride dentifrice. Caries Res 35(Suppl 1): 18-21.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ 3 ปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟัน (เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า)

ลำดับ	ยาสีฟัน	สารประกอบฟลูออไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณฟลูออไรด์ (ppm)				
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	คอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล	NaF 0.11 500 ppm	51.4	47.64	49.27	49.44	1.89
2	เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล	MFP 0.38 500 ppm	48.13	46.16	45.79	46.69	1.26
3	เซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์	MFP 0.38 500 ppm	53.6	46.7	45.07	48.46	4.53
4	ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล	MFP 0.19 NaF0.5525 500 ppm	44.6	23.08	25.22	30.97	11.86
5	โคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์	MFP 0.38 500 ppm	51.4	47.91	38.11	45.81	6.89
6	โคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล	NaF 0.11 500 ppm	50.6	48.44	45.5	48.18	2.56
7	ฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์	NaF 0.021 + MFP 0.683 1000 ppm	71.33	71.27	74.75	72.45	1.99
8	คอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์	MFP 0.7 1000 ppm	28.4	21.2	18.11	22.57	5.28
9	ออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์	NaF 0.2 1000 ppm	88.66	86.82	87.39	87.62	0.94
10	ดาร์ลี่ ชนิดเพสต์	MFP 0.76 1000 ppm	37.06	28.32	17.39	27.59	9.86
11	คิดดี – โอ ชนิดเจล	NaF 0.22 1000 ppm	93.33	93.67	92.61	93.20	0.54
12	ใกล้ชิดชนิดเพสต์	NaF 0.22 1000 ppm	137	93	89.27	106.42	26.55
13	สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน 50 ppm	NaF 0.01	48.2	44.15	39.98	44.11	4.11
14	สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐาน 100 ppm	NaF 0.02	100	99.83	99.42	99.75	0.30

ตารางที่ 4 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (ตารางมิลลิเมตร) ของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*

ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	mean	SD
1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล (500 ppm)	122.10	63.30	98.35	90.89	98.55	94.64	21.09
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล (500 ppm)	101.76	149.54	40.96	185.20	114.38	118.37	54.14
3. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์ (500 ppm)	169.95	101.16	126.26	122.10	71.62	118.22	36.12
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล (500 ppm)	93.61	104.61	28.19	91.47	109.76	85.53	32.94
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์ (500 ppm)	289.52	91.66	117.57	202.90	48.37	150.00	96.24
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล (500 ppm)	228.35	73.04	119.94	80.30	120.59	124.44	62.09
7. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	428.81	237.51	345.83	431.09	112.91	311.23	136.16
8. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	59.94	51.18	311.04	117.79	268.40	161.67	120.61
9. ยาสีฟันยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์(1000 ppm)	477.79	457.67	434.89	293.00	486.20	429.91	79.06
10. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	252.15	124.28	256.02	270.24	495.08	279.55	134.12
11. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล (1000 ppm)	344.46	358.62	301.96	307.78	293.64	321.29	28.51
12. ยาสีฟันใกล้ชิดชนิดเพสต์ (1000 ppm)	467.09	378.38	401.21	470.64	430.33	429.53	40.37
13. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 50 ppm	58.29	38.18	100.35	126.70	116.29	87.96	38.13
14. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 100 ppm	152.87	248.90	422.39	570.15	292.37	337.34	162.26
15. ยาสีฟันคณะทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาฯ ไม่มีฟลูออไรด์	46.98	30.88	99.15	33.92	54.70	53.13	27.49

ตารางที่ 5 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (ตารางมิลลิเมตร) ของเชื้อ *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*

ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	เฉลี่ย	SD
1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล (500 ppm)	131.82	131.59	118.65	123.63	100.35	121.21	12.92
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล (500 ppm)	280.74	102.78	121.02	87.24	52.14	128.78	88.64
3. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์ (500 ppm)	205.06	91.66	71.27	99.35	142.76	122.02	53.24
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล (500 ppm)	111.23	112.27	61.28	96.96	112.27	98.80	21.96
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์ (500 ppm)	253.93	212.70	226.65	220.74	68.81	196.56	73.08
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล (500 ppm)	181.33	91.66	132.04	99.75	48.37	110.63	49.53
7. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	613.39	380.53	456.89	364.92	182.36	399.62	156.32
8. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	129.80	216.29	223.54	187.79	203.70	192.23	37.44
9. ยาสีฟันยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์ (1000 ppm)	438.33	444.48	411.18	450.66	430.71	435.07	15.26
10. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล (1000 ppm)	340.71	404.15	266.27	294.59	298.75	320.89	53.60
11. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	268.40	244.49	238.38	228.06	487.81	293.43	109.67
12. ยาสีฟันใกล้ชิดชนิดเพสต์ (1000 ppm)	510.18	608.46	571.46	426.16	406.36	504.53	88.16
13. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 50 ppm	108.52	123.85	125.16	104.41	164.99	125.38	23.96
14. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 100 ppm	398.64	230.62	273.61	436.42	285.11	324.88	88.00
15. ยาสีฟันคณะทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาฯไม่มีฟลูออไรด์	58.29	18.16	68.11	75.74	48.37	53.73	22.39

ตารางที่ 6 พื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (ตารางมิลลิเมตร) ของเชื้อ *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*

ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	เฉลี่ย	SD
1. ยาสีฟันคอลเกตโปเกมอน ชนิดเจล (500 ppm)	112.91	115.23	120.59	97.36	57.79	100.77	25.53
2. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเจล (500 ppm)	107.07	79.75	83.65	72.69	126.92	94.02	22.47
3. ยาสีฟันเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดเพสต์ (500 ppm)	211.32	53.89	76.28	91.86	115.87	109.84	61.06
4. ยาสีฟันฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล (500 ppm)	82.16	48.52	34.06	91.66	79.38	67.16	24.59
5. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเพสต์ (500 ppm)	162.04	51.66	129.14	175.22	111.23	125.86	48.67
6. ยาสีฟันโคโดโม ไลอ้อน ชนิดเจล (500 ppm)	79.38	78.10	117.36	59.44	46.21	76.10	26.87
7. ยาสีฟันฟลูโอคารีลออริจินัล ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	423.90	243.03	452.21	375.17	273.61	353.59	91.86
8. ยาสีฟันคอลเกตรสยอดนิยม ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	107.07	294.28	262.33	201.55	131.14	199.27	80.85
9. ยาสีฟันยาสีฟันออรัล – บี ทูธแอนด์กัมแคร์ (1000 ppm)	394.26	400.84	464.72	426.16	413.41	419.88	27.89
10. ยาสีฟันดาร์ลี่ ชนิดเพสต์ (1000 ppm)	178.01	170.45	146.49	193.83	346.52	207.06	79.81
11. ยาสีฟันคิดดี – โอ ชนิดเจล (1000 ppm)	281.36	332.25	335.96	445.63	336.97	346.43	60.16
12. ยาสีฟันใกล้ชิดชนิดเพสต์ (1000 ppm)	447.95	371.27	455.33	394.26	342.75	402.31	48.65
13. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 50 ppm	123.41	110.60	139.53	128.47	106.04	121.61	13.56
14. สารละลายฟลูออไรด์มาตรฐานความเข้มข้นที่ 100 ppm	309.41	217.12	323.22	520.93	228.91	319.92	121.84
15. ยาสีฟันคณะทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาฯไม่มีฟลูออไรด์	44.99	36.03	88.39	40.66	33.78	48.77	22.56

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 13.0

ตารางที่ 7 สถิติเชิงพรรณนาของค่าเฉลี่ยพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น เมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

Bacteria	N	Mean	Percentiles		
			25th	50th (Median)	75th
SM	30	115.20	88.2425	103.1850	123.1400
LC	30	129.67	91.6600	112.2700	152.4025
SS	30	95.62	69.3775	87.6550	116.2425

SM = *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*

LC = *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*

SS = *สเตรปโตคอคคัส ซอร์บรินัส*

ตาราง 8 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างชนิดยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

Kruskal –Wallis Test Statistics

500 ppm dentifrices		Mean Rank SM	Mean Rank LC	Mean Rank SS
1	colgate pokemon gel	11.90	17.80	18.40
2	St Andrew gel	17.40	13.80	16.20
3	St Andrew paste	18.30	14.10	16.80
4	Fluorcaril kids gel	10.80	11.40	9.10
5	kodomo paste	18.00	22.80	21.60
6	kodomo gel	16.60	13.10	10.90
	Sig.	.626	.352	.214

ตารางที่ 9 สถิติเชิงพรรณนาของค่าเฉลี่ยพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น เมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

Bacteria	N	Mean	Percentiles		
			25th	50th (Median)	75th
SM	30	322.20	255.0525	327.7500	432.0400
LC	30	357.63	235.8000	372.7250	446.0250
SS	30	321.42	232.6600	339.8600	416.0325

SM = *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์*

LC = *แลคโตแบซิลลัส เคซิไอ*

SS = *สเตรปโตคอคคัส ซอบรินัส*

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างชนิด ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

Kruskal –Wallis Test Statistics

1000 ppm dentifrices		**Mean Rank SM**	**1000 ppm dentifrices**	**Mean Rank LC**	**1000 ppm dentifrices**	**Mean Rank SS**
1	Oral B	* 23.40	close up	* 24.40	Oral B	*24.10
2	close up	*22.80	Oral B	* 21.80	close up	22.10
3	Kiddy O	14.60	Fluocaril	17.60	Fluocaril	17.80
4	Fluocaril	14.00	Kiddy O	13.20	Kiddy O	15.80
5	Darlie	12.00	Darlie	12.20	Darlie	7.00
6	Colgate	**6.20	Colgate	** 3.80	Colgate	** 6.20
	Sig.	.015	Sig.	.003	Sig.	.003

] แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (critical value = 16.34139)

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบความแตกต่างพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน

สถิติเชิงพรรณนา

sample	N	Mean	Std.Deviation	Std.Error mean
SM mean 500	5	115.2020	33.21822	14.85564
mean 1000	5	322.1960	32.76594	14.65337
LC mean 500	5	129.6700	39.01973	17.45015
mean 1000	5	357.6300	26.84858	12.00705
SS mean 500	5	95.6240	19.71783	8.81808
mean 1000	5	321.4220	23.13275	10.34528

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
SMarea	Equal variances assumed	.030	.866	-9.920	8	.000	-206.99400	20.86651	-255.112	-158.876
	Equal variances not assumed			-9.920	7.998	.000	-206.99400	20.86651	-255.114	-158.874

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
LCarea	Equal variances assumed	.087	.775	-10.762	8	.000	-227.96000	21.18200	-276.806	-179.114
	Equal variances not assumed			-10.762	7.094	.000	-227.96000	21.18200	-277.913	-178.007

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
SSarea	Equal variances assumed	1.017	.343	-16.611	8	.000	-225.79800	13.59351	-257.145	-194.451
	Equal variances not assumed			-16.611	7.804	.000	-225.79800	13.59351	-257.282	-194.314

ตารางที่ 12 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นอิออนและพื้นที่ของบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรีย

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SM	.235	15	.025	.866	15	.030
LC	.227	15	.036	.896	15	.082
SS	.244	15	.016	.863	15	.026
Fluoride	.237	15	.023	.938	15	.354

a. Lilliefors Significance Correction

Correlations

		Fluoride	SM
Fluoride	Pearson Correlation	1	.816**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	15	15
SM	Pearson Correlation	.816**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	15	15

		Fluoride	LC
Fluoride	Pearson Correlation	1	.765**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	15	15
LC	Pearson Correlation	.765**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	15	15

		Fluoride	SS
Fluoride	Pearson Correlation	1	.823**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	15	15
SS	Pearson Correlation	.823**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	15	15

**. Correlation is significant at the 0.01 level

ภาคผนวก ค

การทดสอบความแม่นยำในการวัด

การทดสอบความแม่นยำของวิธีการวัด โดยการวิเคราะห์หาความแตกต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น ระหว่างการวัด 2 ครั้งในเวลาที่แตกต่างกัน ด้วยสถิติ pair t-test พบว่าครั้งที่ 1 และ 2 มีความสัมพันธ์ในทิศทางบวก โดยมีค่าความสัมพันธ์เท่ากับ .994 และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) ของเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นในการวัดของผู้วิจัย

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแตกต่างเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของการวัด

Paired Samples Correlations

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
วัดครั้งที่ 1	20.0418	20	5.27804	1.18020
วัดครั้งที่ 2	19.9039	20	5.23870	1.17141

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
วัดครั้งที่ 1 & วัดครั้งที่ 2	20	.994	.000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
วัดครั้งที่ 1 - วัดครั้งที่ 2	.13785	.58205	.13015	-.13456	.41026	1.059	19	.303

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 25 พฤศจิกายน พ.ศ. 2522 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี ทันตแพทยศาสตร์บัณฑิตจากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีพุทธศักราช 2546 เข้ารับราชการที่โรงพยาบาลกุดข้าวปุ้น จังหวัดอุบลราชธานี เป็นเวลา 2 ปี และได้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตและวุฒิบัตรสาขาวิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548 ปัจจุบันรับราชการที่โรงพยาบาลกุดข้าวปุ้น จังหวัดอุบลราชธานี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย