บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคปริทันต์อักเสบและแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์

โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่มีการติดเชื้อและมีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ซึ่งมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ การดำเนินของโรคปริทันต์อักเสบนั้นเป็นผลจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อแบคทีเรียนำไปสู่การทำลายของอวัยวะปริทันต์ ซึ่งประกอบด้วย เหงือก เอ็นยึดปริทันต์ เคลือบรากฟัน และกระดูกเบ้าฟัน โดยการแสดงออกของโรคประกอบด้วยการตรวจพบร่องลึกปริทันต์ (periodontal pocket) การสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment loss) และการตรวจพบการละลายตัวของกระดูกทางภาพถ่ายรังสี ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งไว้ ไม่ได้รับการรักษา อาจเป็นสาเหตุให้ฟันสูญเสียการทำหน้าที่ หรืออาจทำให้เกิดการสูญเสียฟันไปก่อนเวลาอันควร

ได้มีความพยายามในการศึกษาถึงแบคทีเรียที่เป็นส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์มาเป็นเวลาหลายทศวรรษโดยใช้วิธีการในการตรวจหาเชื้อหลากหลายวิธีด้วยกัน จากการศึกษาของ Paster และคณะ (2001) สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่อยู่ในคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกออกมาได้ 347 ชนิด ซึ่งคาดว่าเมื่อรวมแบคทีเรียบริเวณอื่นในช่องปากแล้ว จะมีแบคทีเรียทั้งหมดประมาณ 500 ชนิด แต่อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในช่องปากหรือที่เป็นส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์นั้นไม่ได้เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเสมอไป มีเพียงแบคทีเรียแกรมลบไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญบางชนิดเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคปริทันต์ โดยในปี 1996 คณะกรรมการ World Workshop on Clinical Periodontics ได้มีมติร่วมกันในการยอมรับในหลักฐานการเป็นแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ของแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Tannerella forsythia* (Zambon, 1996) เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติครบตามเกณฑ์ของ Socransky (ดัดแปลงจาก Koch's postulates) ซึ่งประกอบด้วยหลักเกณฑ์ ดังนี้ (Socransky และคณะ, 1992)

1. การพบแบคทีเรียในปริมาณสูงบริเวณที่เป็นโรค (association)
2. แบคทีเรียต้องมีปริมาณลดลง หรือหมดไปในบริเวณที่ได้รับการรักษา หรือในบริเวณที่ไม่เป็นโรค (elimination)
3. ต้องตรวจพบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรีย (host response)

4. สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคได้ในสัตว์ทดลองที่ไม่เป็นโรค (animal pathogenicity)
5. มีปัจจัยที่สามารถทำให้เกิดโรคได้ (virulence factors)

นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียชนิดอื่นที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคปริทันต์อักเสบแต่ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ว่าเป็นแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ เนื่องจากยังขาดคุณสมบัติในบางข้อตามเกณฑ์ของ Socransky เช่น *Treponema denticola, Prevotella intermedia, Campyrobacter rectus, Fusobacterium nucleatum* เป็นต้น (Zambon, 1996; Eley และคณะ, 1998) ซึ่งในอนาคตการศึกษาที่นำมาซึ่งข้อมูลที่เพิ่มมากขึ้นก็อาจจะสามารถพิสูจน์ความเป็นแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ของแบคทีเรีย เหล่านี้ได้

Actinobacillus actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans จัดอยู่ใน genus *Actinobacillus*, family *Pasterurellacese* มีคุณสมบัติเป็น แบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งขนาดเล็ก (1x1.5x0.5 มม.) สามารถเจริญได้ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์และในบรรยากาศที่มีและไม่มีออกซิเจน (capnophilic facultative anaerobic) ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ พบว่าโคโลนีจะมีขนาดเล็กและแบน ลักษณะของโคโลนีจะกลม ขอบไม่ชัด โปร่งแสง บางครั้งจะพบลักษณะคล้ายดาว (star-like) อยู่ภายในโคโลนี (Alsina และคณะ, 2001)

Porphyromonas gingivalis

P. gingivalis จัดอยู่ใน genus *Porphyromonas,* family *Bacteroidaceae* แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างกลมรี (cocco-bacilli) ไม่อาศัยออกซิเจนในการเจริญ (strictly anaerobe) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรียชนิดนี้จะมีลักษณะโคโลนีโค้งนูน (convex) ผิวของโคโลนีเรียบและมัน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร รวมทั้งจะมีลักษณะเฉพาะคือมีสีดำตรงกลาง เนื่องจากการสร้าง Protoheme (White และคณะ, 1981)

Tannerella forsythia

T. forsythia เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถย่อยสลายน้ำตาลได้ (saccharolytic) ไม่อาศัยออกซิเจนในการเจริญ แต่เดิมนั้น แบคทีเรียชนิดนี้มีชื่อว่า *Bacteroides fusiformes* จากนั้นได้มีการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการเปลี่ยนชื่อเป็น *Bacteroides*

forsythus (Tanner และคณะ, 1986) และในปี 2002 ได้มีการจัดแบ่งแบคทีเรียชนิดนี้ใหม่และเปลี่ยนชื่อเป็น *Tannerella forsythensis* (Sakamoto และคณะ, 2002) จากนั้นได้มีการเสนอให้คงชื่อเดิมไว้บางส่วน จึงได้มีการแก้ไขชื่อเป็น *Tannerella forsythia* (Maiden และคณะ, 2003) และชื่อนี้ก็ยังคงใช้อยู่จนถึงปัจจุบัน โดยปกติแล้วแบคทีเรียชนิดนี้จะเจริญได้ยากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เนื่องจากขาดคุณสมบัติในการสร้าง N-acetyl-muramic-acid (NAM) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ peptidoglycan ซึ่งเป็นส่วนของผนังเซล ดังนั้น มันจึงสามารถเพาะเลี้ยงได้ถ้ามีการเติม NAM เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือนำไปเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่น

วิธีการในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย

วิธีในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียนั้นมีอยู่หลายวิธี ซึ่งได้รับการพัฒนาให้มีความแม่นยำและเชื่อถือได้มาเป็นลำดับ แต่ละวิธีมีข้อได้เปรียบและเสียเปรียบที่ต่างกันออกไป ในเรื่องของปริมาณต่ำสุดของแบคทีเรียที่ตรวจพบได้ (detection limit) ความยากง่ายของวิธีการ ค่าใช้จ่าย และเวลาที่ใช้ (Zambon และคณะ, 1995; Zambon, 1997; Sanz และคณะ, 2004) ซึ่งได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 1

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (bacterial culture) ใช้คุณสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย เป็นวิธีการซึ่งใช้เป็น gold standard ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการใหม่ๆ

อิมมูโน แอสเสย์ (immunoassays) เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อโดยอาศัยแอนติบอดี (antibody) ที่สามารถจดจำแอนติเจน (antigen) ที่จำเพาะต่อแบคทีเรียได้ สามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ direct และ indirect immunofluorescent microscopy, flow cytometry, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), bacterial concentration fluorescence immunoassay (BCFIA), membrane assays และ latex agglutination เป็นต้น

เอนไซม์ แอสเสย์ (enzyme assay) เป็นวิธีการในการตรวจหาเอนไซม์บางชนิดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ได้แก่ collagenase, peptidase, trypsin-like enzymes, neutral protease และ elastase เป็นต้น

การตรวจด้วยวิธีทางชีววิทยาโมเลกุล (molecular biology techniques) เป็นวิธีการในการตรวจหาแบคทีเรียโดยอาศัยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วยเทคนิคหลายรูปแบบ ได้แก่ นิวคลีอิค แอซิด โพรบ ซึ่งเป็นการใช้โพรบหรือดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียมาทำเครื่องหมายไว้ด้วยเอนไซม์ หรือกัมมันตภาพรังสีบนโมเลกุล เพื่อให้สามารถตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียเป้าหมายที่เป็นคู่สมกันได้ วิธีการนี้ได้ถูกนำมาพัฒนาให้สามารถตรวจหาแบคทีเรียได้

หลายชนิดพร้อมกัน เรียกว่า checkerboard DNA-DNA hybridization อีกเทคนิคหนึ่ง ได้แก่ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ซึ่งใช้หลักการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วนจำเพาะของแบคทีเรียในดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อให้ได้ปริมาณมากพอที่จะตรวจหาได้ง่าย

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR)

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อที่ใช้หลักการของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายซึ่งอยู่รวมกับดีเอ็นเออื่นโดยไม่จำเป็นต้องทำให้ดีเอ็นเอดังกล่าวบริสุทธิ์ก่อน โดยในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายนั้นจำต้องมีการสังเคราะห์ไพรเมอร์ (primer) ซึ่งเป็นสายโอลิโกนิวคลิโอไทด์ (oligonucleotide) สั้นๆขึ้นมาก่อน โดยไพรเมอร์นี้จะมีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกับปลายแต่ละด้านของดีเอ็นเอเป้าหมาย ซึ่งในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสนั้น ประกอบด้วยดีเอ็นเอของแบคทีเรียเป้าหมาย ไพรเมอร์ บัฟเฟอร์ ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (dNTP ที่ประกอบด้วย dATP, dGTP, dCTP, dTTP) ทั้ง 4 ชนิด และเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) จากนั้นทำให้ดีเอ็นเอเป้าหมายแยกเป็นสายเดี่ยว (denaturation) โดยใช้ความร้อนแล้วลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ไพรเมอร์ที่มีเบสเป็นคู่สมกับส่วนปลายของดีเอ็นเอเป้าหมายเข้ามาจับคู่กับส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ (annealing) ขั้นสุดท้ายจึงเปลี่ยนอุณหภูมิให้พอเหมาะกับการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส ซึ่งจะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากไพรเมอร์ (primer extension) โดยมีดีเอ็นเอเป้าหมายเดิมเป็นต้นแบบ เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปจนครบ 3 ขั้นตอน (1 รอบปฏิกิริยา) โมเลกุลของดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มเป็น 2 เท่าดังนั้นเมื่อปฏิกิริยานี้ดำเนินซ้ำกันหลายๆรอบ ดีเอ็นเอเป้าหมายก็จะมีการเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ (exponential) จำนวนรอบในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสขึ้นกับปริมาณเริ่มต้นของดีเอ็นเอต้นแบบ โดยทั่วไปใช้ 30-35 รอบ จากนั้นจะทำการตรวจหาดีเอ็นเอของแบคทีเรียเป้าหมายด้วยการทำ electrophoresis บนแผ่น agarose gel ที่ถูกย้อมด้วย ethidium bromide ในการแปลผลนั้น จะตรวจนับเพียงความถี่หรือความชุกของการพบแบคทีเรีย ส่วนการบอกปริมาณของแบคทีเรียนั้นต้องอาศัยการเปรียบเทียบความเข้มของแถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรียในตัวอย่างที่ศึกษากับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากแบคทีเรียที่ทราบปริมาณที่แน่นอน วิธีการนี้เรียกว่า end-point PCR ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเครื่องมือให้สามารถตรวจหาปริมาณดีเอ็นเอของแบคทีเรียเป้าหมายที่เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสได้โดยตรง เรียกว่า real-time PCR แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของต้นทุนที่มีราคาสูง ทำให้วิธีการนี้ยังไม่สามารถนำมาใช้อย่างแพร่หลายได้

ตารางที่ 1: เปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในปัจจุบัน

เทคนิค	ข้อดี	ข้อด้อย	ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจได้ (เซลล์)	เวลาที่ใช้
เพาะเชื้อ	-สามารถตรวจหาแบคทีเรียได้หลายชนิดในคราวเดียว -ทดสอบความไวและการต้านต่อยาปฏิชีวนะได้ -สามารถบอกปริมาณของแบคทีเรียได้ค่อนข้างแม่นยำ -ตรวจพบแบคทีเรียชนิดใหม่ๆ ได้	-ตรวจสอบได้เฉพาะแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้ -แบคทีเรียที่นำมาศึกษาต้องมีชีวิต -ค่าใช้จ่ายสูง -ใช้เวลานาน -ต้องการบุคลากรที่มีความชำนาญ	อาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป 10^4 - 10^5 อาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ 10^3	1-3 สัปดาห์
อิมมูโนแอสเสย์	-สามารถตรวจสอบได้ถึงระดับ species, subspecies, virulence factors -สามารถบอกปริมาณของแบคทีเรียได้อย่างคร่าวๆ (semi-quantitative) -แบคทีเรียที่นำมาตรวจสอบไม่จำเป็นต้องมีชีวิต -สามารถตรวจสอบได้ในคลินิกทันตกรรม -รวดเร็ว -ค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการเพาะเชื้อ	-อาจเกิดครอสรีแอคติวิตี้ได้ -ต้องการ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อแบคทีเรีย ซึ่งมีจำกัด -ไม่สามารถตรวจสอบความไวหรือการต้านต่อยาปฏิชีวนะได้ -เครื่องมือสำหรับบางวิธีการมีราคาแพง	10^2 – 10^4	1 ชั่วโมง – 1 วัน
นิวคลีอิค แอซิด โพรบ แอสเสย์	-สามารถตรวจสอบได้ถึงระดับ species, subspecies, virulence factors -สามารถบอกปริมาณของแบคทีเรียได้อย่างคร่าวๆ (semi-quantitative) -แบคทีเรียที่นำมาตรวจสอบไม่จำเป็นต้องมีชีวิต	-อาจเกิดครอสรีแอคติวิตี้ได้ (โดยเกิดกับ whole genomic DNA probe ได้มากกว่า oligonucleotide probe) -ไม่สามารถตรวจสอบความไวหรือการต้านต่อยาปฏิชีวนะได้ -เครื่องมือราคาแพง	10^2	1-48 ชั่วโมง
เอนไซม์ แอสเสย์	-รวดเร็ว -ไม่แพง -ทำได้ในคลินิกทันตกรรม	-ตรวจหาแบคทีเรียได้เป็นกลุ่ม บอก species ไม่ได้ -แบคทีเรียที่นำมาศึกษาต้องมีชีวิต -ไม่สามารถตรวจสอบความไวหรือการต้านต่อยาปฏิชีวนะได้	10^4	15 นาที
ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	-สามารถตรวจสอบได้ถึงระดับ species, subspecies, virulence factors -แบคทีเรียที่นำมาตรวจสอบไม่จำเป็นต้องมีชีวิต -มีความไวสูงสุด -รวดเร็ว	-เกิดการปนเปื้อน (contamination) ได้ง่าย -ไม่สามารถตรวจสอบความไวหรือการต้านต่อยาปฏิชีวนะได้ -เครื่องมือราคาแพง	10	2-4 ชั่วโมง

ระบาดวิทยาเกี่ยวกับความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์

การศึกษาทางระบาดวิทยาของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์มี 3 วิธีด้วยกัน คือ การศึกษา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (cross-sectional study) การศึกษาแบบควบคุมกรณี (case control study) และการศึกษาแบบติดตามผลระยะยาว (longitudinal study) การศึกษา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่งเป็นการเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างทุกคน โดยไม่ทราบว่าเป็นหรือไม่เป็นโรค จึงเหมาะกับการศึกษาเรื่องความชุกของแบคทีเรียในกลุ่มประชากรนั้นๆ และสามารถนำมาศึกษาปัจจัยเสี่ยงของโรคได้มากกว่าหนึ่งชนิดจากการเก็บข้อมูลเพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ดี วิธีนี้มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถระบุชนิดของโรคปริทันต์อักเสบในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาได้ โดยทั่วไปถ้าทำการศึกษาในประชากรวัยผู้ใหญ่ กลุ่มตัวอย่างที่เป็นโรคส่วนใหญ่มักเป็นชนิดเรื้อรัง (chronic periodontitis) เนื่องจากความชุกที่พบได้มากกว่า ส่วนการศึกษาแบบควบคุมกรณีทำโดยการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เป็นโรคมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรค ซึ่งมีค่าตัวแปรรบกวน (confounder) ใกล้เคียงกัน วิธีการนี้สามารถใช้เกณฑ์ในการคัดกรองผู้ป่วย (inclusion criteria) มาเป็นตัวกำหนดชนิดและความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในกลุ่มตัวอย่างที่ต้องการศึกษาได้ อย่างไรก็ดี การศึกษาทั้งแบบจุดเวลาเดียว และแบบควบคุมกรณี สามารถบอกได้เพียงว่าปัจจัยที่ต้องการศึกษามีความสัมพันธ์กับโรคหรือไม่ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยดังกล่าวเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเนื่องจากเป็นการศึกษาที่เวลาจุดเดียว จึงไม่สามารถบอกลำดับการเกิดก่อนหลังได้ ดังนั้นจึงใช้เป็นการศึกษานำร่องก่อนการศึกษาแบบติดตามผลระยะยาวซึ่งจำเป็นต้องใช้งบประมาณสูง และใช้เวลานานในการติดตามผลแต่สามารถใช้ยืนยันได้ว่าปัจจัยดังกล่าวเป็นสาเหตุของการเกิดโรคจริง

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาที่ผ่านมาเกี่ยวกับความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ทั้ง 3 ชนิด คือ *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* และ *T. forsythia* พบว่า มีความชุกที่แตกต่างกันมากในแต่ละการศึกษา ดังตารางที่ 2 ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ วิธีการในการเก็บตัวอย่าง วิธีที่ใช้ในการตรวจหาแบคทีเรีย ลักษณะของกลุ่มประชากรที่ศึกษา ความรุนแรงและชนิดของโรค เป็นต้น

วิธีการในการเก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกเพื่อนำมาทำการศึกษามีด้วยกันหลายวิธี ได้แก่ การใช้เครื่องมือขูดหินน้ำลาย (scalers หรือ curettes), การใช้กระดาษซับคลองรากฟัน (paper points), irrigating device capillary tube, barbed broach cannula เป็นต้น ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ทั่วไปมี 2 วิธี คือ การใช้เครื่องมือขูดหินน้ำลายและการใช้กระดาษซับคลองรากฟัน การใช้เครื่องมือขูดหินน้ำลายจะสามารถเก็บเชื้อทั้งที่เกาะอยู่หลวมๆในร่องลึกปริทันต์รวมไปถึงส่วนที่เกาะแน่นกับผิวรากฟัน หรือ เยื่อบุผิวของร่องลึกปริทันต์ (pocket epithelium) ด้วย โดยจะสามารถเก็บ

ตัวอย่างแบคทีเรียได้มากถึงร้อยละ 61-91 เทียบกับกระดาษซับคลองรากฟันที่สามารถเก็บตัวอย่างได้เพียงร้อยละ 7-41 ของแบคทีเรียทั้งหมดในร่องลึกปริทันต์ (Tanner และคณะ, 1986)

จำนวนตัวอย่างที่เลือกมาเป็นตัวแทนสำหรับการเก็บตัวอย่างก็มีความสำคัญเช่นกัน Haffajee และ Socransky (1992) พบว่า การเพิ่มจำนวนของซี่ฟันที่เก็บตัวอย่างจะช่วยลดการแปลผลผิด (false-negative) ลงได้โดยเฉพาะในแบคทีเรียกลุ่มที่พบได้น้อย Christersson และคณะ (1992) เสนอว่า ในการศึกษาเกี่ยวกับความชุกของแบคทีเรียที่พบได้น้อย เช่น *A. actinomycetemcomitans* ควรเก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกอย่างน้อย 25 ตำแหน่งขึ้นไป ขณะที่ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* ซึ่งพบได้มากกว่า ควรเก็บตัวอย่างโดยสุ่มจาก 6 ตำแหน่งขึ้นไป หรือจากตำแหน่งที่มีความลึกของร่องลึกปริทันต์ตั้งแต่ 5 มิลลิเมตร จำนวน 3 ตำแหน่งขึ้นไป จากตารางที่ 2 Preus (1995) ได้ทำการศึกษาความชุกของแบคทีเรียในศรีลังกา โดยเก็บตัวอย่างเพียง 2 ตำแหน่ง ดังนั้น อาจทำให้ความชุกของแบคทีเรียน้อยกว่าความเป็นจริง เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Papapanou (1997; 2002) ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากฟันครึ่งปาก

ในด้านของวิธีการที่ใช้ในการตรวจหาแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์มีหลายวิธีการด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีก็มีความแตกต่างในปริมาณต่ำสุดของแบคทีเรียที่สามารถตรวจพบได้ (detection limit) กล่าวคือ การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารทั่วไป 10^4-10^5 เซลล์ การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเฉพาะ 10^3 เซลล์ (Wolff และคณะ, 1992) ELISA 10^4 เซลล์ (Hamlet และคณะ, 2001) BCFIA $5x10^3$ เซลล์ (Wolff และคณะ, 1993) Checkerboard DNA-DNA hybridization 10^3 -10^4 เซลล์ (Papapanou และคณะ, 1997; Dowsett และคณะ, 2002) และวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส สามารถตรวจพบแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ได้ที่ปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น คือที่ 25-100 เซลล์ (Ashimoto และคณะ, 1996) ซึ่งถ้าปริมาณต่ำสุดของแบคทีเรียที่ตรวจพบได้ของเครื่องมือมีค่าสูง แสดงถึงปริมาณของแบคทีเรียที่ต้องการตรวจจะต้องมีมากพอจึงจะตรวจพบได้ ดังนั้นค่านี้จึงมีผลต่อค่าความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ที่ตรวจพบ จากการศึกษาของ Papapanou (1997) เมื่อเพิ่มปริมาณต่ำสุดของแบคทีเรียที่ตรวจพบ จาก score ≥ 1 เป็น 4+5 พบว่า ความชุกของแบคทีเรียลดลงโดยเฉพาะ *A. actinomycetemcomitans* ซึ่งความชุกลดลงจากร้อยละ 83 เป็นร้อยละ 1.3

ในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเพื่อรอการวิเคราะห์ทางชีววิทยาโมเลกุลนั้น ปัจจัยที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์หาแบคทีเรียที่ต้องการศึกษา ได้แก่ เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง โดยทั่วไปหากต้องการเก็บตัวอย่างเป็นเวลานานหลายปีควรเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ขณะที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส อาจเพียงพอสำหรับการเก็บตัวอย่างได้ในเวลาเป็นเดือน (Holland และคณะ, 2003) Moncla และคณะ (1990) รายงานว่า การเก็บตัวอย่างเพื่อรอการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ – 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาตั้งแต่ 2 ปีขึ้นไป จะมีการสูญเสียนิวคลีอิคแอซิดประมาณร้อยละ 0-15 การศึกษาของ Katsoulis และคณะ (2005) พบว่าเมื่อทำการ

เก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ได้เหงือกที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าความถี่ของการตรวจพบ *A. actinomycetemcomitans* ด้วยวิธี DNA-DNA hybridization ลดลงจากร้อยละ 21.1 เป็นร้อยละ 6.6 ส่วนความถี่ของการตรวจพบ *P. gingivalis* ลดลงร้อยละ 4 และความถี่ของการตรวจพบ *T. forsythia* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์ทันทีหลังการเก็บตัวอย่าง

นอกจากปัจจัยในเรื่องของวิธีการตรวจหาแบคทีเรียแล้ว ยังมีปัจจัยในเรื่องของเชื้อชาติและถิ่นที่อยู่ที่มีผลต่อความชุกของแบคทีเรีย เช่น ประชากรที่อาศัยในชนบทของไทยและจีนพบ *A. actinomycetemcomitans* สูงถึงร้อยละ 80-90 (Papapanou และคณะ, 1997; 2002) เทียบกับคนที่อาศัยในชนบทของกัวเตมาลาซึ่งตรวจไม่พบ *A. actinomycetemcomitans* เลย (Dowsett และคณะ, 2002) เมื่อเปรียบเทียบประชากรที่มีเชื้อชาติต่างกันแต่อาศัยในถิ่นที่อยู่เดียวกันจะพบว่า *A. actinomycetemcomitans* มีแนวโน้มที่จะพบในคนเชื้อชาติ Asians และ African-Americans ได้สูงกว่า Caucasians ที่อาศัยอยู่ในถิ่นที่อยู่เดียวกัน (Beck และคณะ, 1992; Alpagot และคณะ, 1996; Umeda และคณะ, 1998) นอกจากนี้ กลุ่มประชากรที่ถูกเลือกขึ้นมาเป็นตัวแทนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการศึกษาเช่นกัน กลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในเมืองเทียบกับในชนบทหรือกลุ่มประชากรที่มีอาชีพหรือเศรษฐานะต่างกัน อาจมีการเข้าถึงและความสม่ำเสมอในการรับบริการทางทันตกรรมที่ต่างกัน ซึ่งอาจมีผลต่อความชุกของแบคทีเรียที่ตรวจพบได้ (Ximenez-Fyvie และคณะ, 2000; Goodson และคณะ, 2004)

ความรุนแรงของโรคปริทันต์ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความชุกของแบคทีเรีย ในการศึกษา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (cross-sectional) ประชากรที่ศึกษามักมีความรุนแรงของโรคปริทันต์ไม่เท่ากันรวมถึงมีความแตกต่างกันในสัดส่วนของประชากรที่เป็นโรคกับไม่เป็นโรค ซึ่งมีผลต่อความชุกโดยรวมของประชากรนั้นๆ อย่างไรก็ดี ในบางการศึกษาที่มีการจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามสภาวะปริทันต์ จะพบว่า ความชุกของ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* จะมากขึ้นเมื่อความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น โดยไม่พบความแตกต่างในความชุกของแบคทีเรียเหล่านี้ ระหว่างผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังและชนิดรุกราน (Grossi และคณะ, 1994; Griffen และคณะ, 1998; Umeda และคณะ, 1998; van Winkelhoff และคณะ, 2002; Yang และคณะ, 2004; Cortelli และคณะ, 2005) ส่วนความชุกของ *A. actinomycetemcomitans* นั้นจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักในกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบแต่จะมีความชุกที่เพิ่มอย่างชัดเจนในกรณีของโรคปริทันต์อักเสบชนิดรุกราน (Zambon และคณะ, 1983; Grossi และคณะ, 1994; Umeda และคณะ, 1998; Cortelli และคณะ, 2005; Yang และคณะ, 2005)

ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างในรายละเอียดของวิธีการของแต่ละการศึกษา แต่ก็พอจะสรุปจากตารางที่ 2 ได้ว่า การศึกษาส่วนใหญ่ตรวจพบแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ทั้ง 3 ชนิด โดยตรวจพบได้ที่ความชุกแตกต่างกันออกไปในแต่ละประชากรที่ศึกษาและมักตรวจพบ

A. actinomycetemcomitans ในจำนวนและความถี่ที่น้อยกว่า *P. gingivalis* และ *T. forsythia* (Grossi และคณะ, 1994; Umeda และคณะ, 1998; van Winkelhoff และคณะ, 2002; Cortelli และคณะ, 2005) อย่างไรก็ดี การศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะทำการศึกษาในกลุ่มประชากรชาวตะวันตก มีส่วนน้อยที่ทำการศึกษาในกลุ่มประเทศทางเอเชีย ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ในประเทศไทยนั้น Papapanou และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีถิ่นที่อยู่ในชนบททางภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้วิธีการ checkerboard DNA-DNA hybridization ในการตรวจหาแบคทีเรีย ซึ่งผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดมีความชุกสูงมากเมื่อเทียบกับการศึกษาอื่นๆ (มากกว่าร้อยละ 90) แต่ด้วยปัจจัยในด้านของถิ่นที่อยู่รวมถึงลักษณะของกลุ่มประชากร จึงทำให้ประชากรกลุ่มนี้อาจจะไม่สามารถเป็นตัวแทนของประชากรไทยทั้งหมดได้ อย่างไรก็ตาม การจะทำการศึกษาโดยออกแบบให้ครอบคลุมกลุ่มตัวอย่างของประชากรไทยทั้งประเทศก็เป็นสิ่งที่ทำได้ยาก ดังนั้น การเลือกที่จะศึกษาในประชากรไทยกลุ่มอื่นที่มีถิ่นที่อยู่ รวมถึงวิถีการดำรงชีวิตที่แตกต่างออกไป จึงน่าจะเป็นทางเลือกในการศึกษาเกี่ยวกับความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ซึ่งจะทำให้เกิดความเข้าใจที่ดีขึ้นในกลุ่มประชากรไทยต่อไปได้

ตารางที่ 2: เปรียบเทียบความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด

References	กลุ่มศึกษา	วิธีการ	ตัวอย่าง	วิธีเก็บ	ความชุก (prevalence)
(Beck และคณะ, 1992) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา -N=663 (≥65 ปี)	Immunofluores-cent microscopy	ฟันกรามแรก 4 ซี่	กระดาษชับคลองรากฟัน	จำแนกตามเชื้อชาติ: Caucasian, African-American *Aa* = 15.1%, 24.7% *Pg* = 9.4%, 38.8%
(Wolff และคณะ, 1993) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา -N=938(28-78 ปี)	BCFIA	ฟันหลัง3-4 ซี่ ใน 1 sextant ที่สุ่มเลือก	คิวเรตต์	*Aa* = 38% *Pg* = 32%
(Grossi และคณะ, 1994) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา -N=1,426 (Caucasian 90.3%, 25-74ปี)	Immunofluores-cent microscopy	ฟันบน 6 ซี่,ฟันล่าง 6 ซี่	กระดาษชับคลองรากฟัน	จำแนกตาม mean AL: Healthy(0-1),Low(1.1-2), Moderate(2.1-3),High(3.1-4),Severe(4.1-8), รวม *Aa*=3.9%, 2.3%, 4.3%, 4.0%, 4.7%, 3.4% *Pg*=5.2%, 8.2%, 19.9%, 26.2%, 29.3%, 15.6% *Tf*=18.2%, 26.2%, 45.6%, 56.8%, 63.2%, 38.6%
(Alpagot และคณะ, 1996) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา/คนเมือง -N=117(18-70 ปี)	BCFIA	ฟันหลัง 4 ซี่ใน 1 sextant ที่เป็นโรคมากที่สุด	คิวเรตต์	จำแนกตามเชื้อชาติ: Caucasian, Native American, African-American, Asian-American *Aa*=45.8%, 50.0%, 57.7%, 61.1% *Pg*=75.0%, 70.0%, 76.9%, 61.1%
(Umeda และคณะ, 1998) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา -N=199 (16-83 ปี)	PCR	ร่องลึกปริทันต์ที่ลึกสุด 4 ตำแหน่ง	กระดาษชับคลองรากฟัน	จำแนกตามเชื้อชาติ: Caucasian,African-American, Asian-American, Hispanics, รวม *Aa*=17.4%, 28.%, 45.8%, 50%, 35.7% *Pg*= 32.7%, 59.2%, 60.4%, 72%, 56.3% *Tf*= 65.4%, 65.3%, 54.2%, 68%, 63.3% จำแนกตามสภาวะปริทันต์ (H/G,S,M,A)* *Aa*=31.3%, 28%, 40.7%, 42.6% *Pg*= 31.3%, 52%, 72.2%, 68.1% *Tf*= 43.8%, 44%, 77.8%, 89.4%
(Papapanou และคณะ, 1993) Cross-sectional	-สวีเดน / พนักงานบริษัท -N=171(30-65 ปี)	Culture	ฟัน 6 ซี่ตาม Ramfjord	กระดาษชับคลองรากฟัน	*Aa* = 25% *Pg* = 14%
(Hamlet และคณะ, 2001) Cross-sectional	-ออสเตรเลีย / พนักงานมหาวิทยาลัย -N=504(17-64 ปี)	ELISA	ร่องลึกปริทันต์ที่ตื้นสุดและลึกสุดแต่ละ sextant	คิวเรตต์	*Aa* = 22.8% *Pg* = 14.7%

Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Pg: Porphyromonas gingivalis, Tf: Tannerella forsythia

* สภาวะปริทันต์ จำแนกตาม ระดับการสูญเสียกระดูกเบ้าฟัน(Bone loss, BL) :no BL= Healthy/Gingivitis (H/G), BL ≤ 1/3=Slightly Periodontitis (S) , 1/3>BL<1/2 =Moderate Periodontitis (M), BL ≥ 1/2=Advanced Periodontitis (A)

ตารางที่ 2 (ต่อ): เปรียบเทียบความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด

References	กลุ่มศึกษา	วิธีการ	ตัวอย่าง	วิธีเก็บ	ความชุก (prevalence)
(Preus และคณะ, 1995) Cross-sectional	-ศรีลังกา /คนงานไร่ชา/ ไม่เคยทำฟัน -N=268 (ชาย 35-55 ปี)	indirect immunofluores-cence	2 ตำแหน่ง: healthy/gingivitis กับร่องลึกปริทันต์ลึกสุด	กระดาษซับคลองรากฟัน	*Aa*= 15.2% *Pg*= 39.9%
(Papapanou และคณะ, 1997) Cross-sectional	-จีน / คนชนบท -N=148 (30-39, 50-59 ปี)	checkerboard DNA-DNA hybridization	ทุกซี่ใน 2 quadrant ที่ตรงข้ามกัน	คิวเรตต์	จำแนกตาม score: >0 หรือ 4+5 * *Aa*=83.1%, 1.3% *Pg*=100%, 92.0% *Tf*=98.6%, 71.0%
(Papapanou และคณะ, 2002) Cross-sectional	-ไทย / ชนบท -N=356 (30-39, 50-59 ปี)	checkerboard DNA-DNA hybridization	ทุกซี่ใน 2 quadrant ที่ตรงข้ามกัน	คิวเรตต์	จำแนกตาม score: >0 หรือ 4+5 * *Aa*=92.7% , 14.6% *Pg*=99.7%, 85.7% *Tf*=99.7%, 94.6%
(Dowsett และคณะ, 2002) Cross-sectional	-กัวเตมาลา/ indigenous Indians/ คนชนบท /ไม่เคยทำฟัน -N=114(36-63 ปี)	checkerboard DNA-DNA hybridization	3-7 ตำแหน่ง โดยรวมตำแหน่งที่มีร่องลึกปริทันต์ที่ลึกที่สุดและตื้นที่สุด	คิวเรตต์	*Aa*=0% *Pg*~30% *Tf*~11%
(Griffen และคณะ, 1998) Case-control	-สหรัฐอเมริกา -N=311 (Control =181,อายุเฉลี่ย 49.2 ปี, Diseased=130,อายุเฉลี่ย 51.4 ปี)	PCR	ด้านใกล้กลางของฟันทุกซี่ในช่องปาก	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามเชื้อชาติ: Caucasian, African-American, Asian-American *Pg*= 42%, 66%, 70% จำแนกตามสภาวะปริทันต์: (Healthy,Diseased) *Pg*: 25%,79%
(van Winkelhoff และคณะ, 2002) Case-control	-เนเธอร์แลนด์ -N=210 (Control=94,อายุเฉลี่ย 40.4 ปี, Periodontitis= 116, อายุเฉลี่ย42.4 ปี)	Culture	Periodontitis: ร่องลึกปริทันต์ที่ลึกที่สุดในแต่ละ Quadrant Control: ฟันกรามแรกทั้ง 4 ซี่	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์: (Healthy,Periodontitis) *Aa*=12.8% , 31.0% *Pg*=10.6%, 59.5% *Tf*=47.9%, 90.5%

Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Pg: Porphyromonas gingivalis, Tf: Tannerella forsythia

* Hybridization score: 0=no signal, 1<10^5 เซลล์, 2=10^5 เซลล์, 3>10^5 แต่ <10^6 เซลล์, 4=10^6 เซลล์ และ 5>10^6 เซลล์

H:Healthy, ChP: Chronic Periodontitis, LJP: Localized Juvenile Periodontitis (ปัจจุบัน: Localized Aggressive Periodontitis)

ตารางที่ 2 (ต่อ): เปรียบเทียบความชุกของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด

References	กลุ่มศึกษา	วิธีการ	ตัวอย่าง	วิธีเก็บ	ความชุก (prevalence)
(Zambon และคณะ, 1983) Case-control	-สหรัฐอเมริกา -N=305 (H=142, ChP=134, LJP=29)[#] 1-78 ปี	Culture	ด้านใกล้กลางของฟัน6 ซี่ โดยรวมฟันกรามแท้ซี่แรก (หรือซี่ที่สอง) 4 ซี่	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์ :(H, ChP, LJP) *Aa*=16.9%, 20.8%, 96.6%
(Slots และคณะ, 1990) Case-control	-สหรัฐอเมริกา -N=1,624 (ChP=1,581, LJP=43)[#] 15-89 ปี	Culture	ร่องลึกปริทันต์ที่ลึกที่สุด 3 ตำแหน่ง	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์ :(ChP, LJP) *Aa*=31%, 85%
(Yang และคณะ, 2004) Case-control	-ไต้หวัน -N=279 (H=91, AP=210, RPP=78)[#] อายุเฉลี่ย45.2 ปี	Indirect Immunofluorescent	Periodontitis: ร่องลึกปริทันต์ที่ลึก $\geq$ 5 มม. 2 ตำแหน่ง	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์: (H,AP,RPP)[#] *Pg*= 23.1%, 88.6%, 82.1% *Tf*= 39.6%, 62.4% 59.0%
(Yang และคณะ, 2005) Case-control	-ไต้หวัน -N=221 (H=50, ChP=101, AgP=70,)*	Indirect Immunofluorescent	ร่องลึกปริทันต์ที่ลึก$\geq$ 5 มิลลิเมตร 2 ตำแหน่ง	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์ : (H, ChP, AgP) *Aa*=64.0%, 60.4%, 84.3%
(Cortelli และคณะ, 2005)	-บราซิล -N=203 (ChP=178, AgP=25) อายุ 15-69 ปี	DNA-DNA hybridization	ด้านใกล้กลางของฟันกรามแท้ซี่แรก (หรือซี่ที่สอง) 4 ซี่, ฟันตัดบนขวาและล่างซ้าย	กระดาษซับคลองรากฟัน	จำแนกตามสภาวะปริทันต์ (ChP, AgP) *Aa*= 41.6%, 72% *Pg*= 68.0%, 80% *Tf*= 45.5%, 56%

Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Pg: Porphyromonas gingivalis, Tf: Tannerella forsythia

H:Healthy, AP:Adult Periodontitis (ปัจจุบัน : Chronic Periodontitis), RPP: Rapidly Progressive Periodontitis (ปัจจุบัน: Aggressive Periodontitis)

* AgP: Aggressive Periodontitis, ChP: Chronic Periodontitis

ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์และโรคปริทันต์อักเสบ

นอกเหนือจากข้อมูลในด้านความชุกแล้ว อีกหลักฐานหนึ่งที่ยืนยันการเป็นแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ คือ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบแบคทีเรียกับการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งสถิติที่นิยมใช้คือ การวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ชนิดต่างๆ ซึ่งนอกจากจะบอกว่าปัจจัยใดมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแล้ว ยังสามารถบอกระดับความสัมพันธ์ (strength of association) ได้อีกด้วยโดยคำนวณออกมาเป็นค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น (Odds Ratio: OR) หรือ ความเสี่ยงสัมพัทธ์ (Relative Risk: RR) ถ้าค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 1 แสดงถึงปัจจัยดังกล่าวไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค แต่ถ้าค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นมีค่ามากกว่า 1 แสดงว่าคนที่มีปัจจัยดังกล่าวมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรค ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นยิ่งมาก ความเสี่ยงก็เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันถ้าค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นมีค่าน้อยกว่า 1 แสดงถึงความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามของปัจจัยที่ต้องการศึกษากับการเกิดโรค อย่างไรก็ดี ในการแปลผลนั้นสิ่งที่จำเป็นต้องพิจารณาประกอบด้วย คือค่าช่วงความเชื่อมั่น (confidence interval: CI) ภายใต้ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนด เช่น ถ้าค่า 95% CI มีค่าคร่อมในช่วง 1 แสดงถึงการไม่มีนัยสำคัญในทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นอกจากนี้ ความกว้างของค่าช่วงความเชื่อมั่นยังบ่งชี้ถึงความผันแปรของข้อมูล และ/หรือ ขนาดตัวอย่าง ถ้าขนาดตัวอย่างใหญ่ หรือความผันแปรของข้อมูลน้อยค่านี้จะแคบ แต่ถ้าตัวอย่างขนาดเล็ก และ/หรือ ความผันแปรของข้อมูลมาก ค่านี้จะกว้าง ค่าช่วงความเชื่อมั่นจะมีความสำคัญเป็นพิเศษ เมื่อผลการศึกษาพบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ในกรณีนี้ ถ้าค่าช่วงความเชื่อมั่นแคบ จะทำให้มั่นใจได้มากขึ้นว่า คงจะไม่มีความสัมพันธ์กันจริง แต่ถ้าค่าช่วงความเชื่อมั่นกว้าง แสดงว่าขนาดตัวอย่างอาจจะน้อยเกินไปที่จะสรุปได้ด้วยความมั่นใจ (สีลม, 2540)

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์และโรคปริทันต์อักเสบ ดังตารางที่ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษาทั้งในแง่ของชนิดของแบคทีเรียและระดับความสัมพันธ์ที่แสดงโดยค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็น ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความแตกต่างของเกณฑ์ในการจัดแบ่งผู้ป่วยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบ การไม่ได้ปรับค่าตัวแปรรบกวนหรือปรับได้ไม่สมบูรณ์ ชนิดของโรคปริทันต์อักเสบ รวมถึงความแตกต่างของกลุ่มประชากรที่ศึกษา เป็นต้น

ตัวแปรที่ใช้ในการจัดแบ่งผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบมีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา บางการศึกษาใช้ร่องลึกปริทันต์หรือระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์หรือใช้ทั้งสองตัวแปรประกอบกัน ขณะที่บางการศึกษาใช้ระดับการสูญเสียกระดูกเบ้าฟันเป็นเกณฑ์ นอกจากนี้ระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์ในแต่ละการศึกษาก็มีความแตกต่างกัน ขึ้นกับเกณฑ์ในการคัด

แยกผู้ป่วยว่าเป็นหรือไม่เป็นโรค ซึ่งเกณฑ์ในการคัดแยกผู้ป่วยนี้ มีผลต่อความสัมพันธ์ที่คำนวณได้ กล่าวคือ หากมีการตั้งเกณฑ์การเป็นโรคสูง ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่คำนวณได้มักจะสูงตาม แต่ทั้งนี้ขึ้นกับกลุ่มควบคุม (control group) ที่ถูกกำหนดขึ้นมาด้วย โดยกลุ่มควบคุมควรเป็นกลุ่มที่ไม่เป็นโรคหรือเป็นโรคน้อย แต่ถ้ากลุ่มควบคุมเป็นกลุ่มที่มีผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรวมอยู่ด้วย ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่คำนวณได้จะน้อยกว่าความเป็นจริง (underestimated) ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาของ Beck และคณะ (1992) ซึ่งได้จัดแบ่งกลุ่มคนที่เป็นโรคด้วยเกณฑ์ที่สูง กล่าวคือมีการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (attachment loss) ≥ 7 มิลลิเมตร แต่ในขณะเดียวกันก็ใช้กลุ่มควบคุมที่มีการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ < 7 มิลลิเมตร จึงมีผู้ป่วยโรคปริทันต์รวมอยู่ด้วยทำให้ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่าความเป็นจริง เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ van Winkelhoff และคณะ (2002) ซึ่งได้จัดแบ่งกลุ่มที่เป็นโรคในเกณฑ์สูงเช่นกัน กล่าวคือ มีการทำลายของกระดูกเบ้าฟันอย่างน้อยร้อยละ 50 แต่ใช้กลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคคือไม่มีการทำลายของกระดูกเบ้าฟันเลย จะพบว่า ค่าอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่คำนวณได้มีค่าสูง เป็นต้น

ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงในการแปลผลความสัมพันธ์อีกประการหนึ่ง คือ การปรับความแตกต่างของตัวแปรรบกวน (adjusted for confounders) ที่มีผลต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ ได้แก่ อายุ และการสูบบุหรี่ เป็นต้น ซึ่งในการศึกษา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่งนั้น อาศัยวิธีการทางสถิติในการปรับตัวแปรรบกวนที่อาจมีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ให้คงที่ เพื่อให้ค่าความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ต้องการศึกษาใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด ส่วนการศึกษาแบบควบคุมกรณีนั้น มีการควบคุมค่าตัวแปรรบกวนในขั้นตอนของการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง เช่น การคัดเลือกกลุ่มศึกษาที่มีอายุ และเพศใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม เป็นต้น อย่างไรก็ดี จากข้อมูลที่ได้รวบรวมมา ตามตารางที่ 3 พบว่า มีเพียงบางการศึกษาเท่านั้น ที่มีการปรับความแตกต่างของตัวแปรรบกวนที่มีผลต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ ดังนั้น ค่าความสัมพันธ์ที่แสดงออกมาจึงอาจสูงกว่าความเป็นจริง เนื่องจากมีอิทธิพลของตัวแปรรบกวนแฝงอยู่

นอกจากความแตกต่างในวิธีการศึกษาแล้ว ชนิดของโรคปริทันต์อักเสบในกลุ่มประชากรที่เลือกมาศึกษา ยังมีผลต่อความสัมพันธ์กับชนิดของแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก การศึกษาทางระบาดวิทยาที่ผ่านมาส่วนใหญ่มักทำในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง เนื่องจากพบได้บ่อยกว่าในประชากรโดยทั่วไป โดยจากหลักฐานที่มีอยู่พบว่าเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* มีบทบาทที่เด่นชัดที่สุดในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบชนิดรุกราน (Zambon และคณะ, 1983; Slots และคณะ, 1990; Timmerman และคณะ, 2000; Cortelli และคณะ, 2005; Yang และคณะ, 2005) ขณะที่ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* มีความสัมพันธ์อย่างมากกับโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง (Beck และคณะ, 1992; Grossi และคณะ, 1994; Alpagot และคณะ, 1996; Machtei และคณะ, 1997; Papapanou และคณะ, 1997; Griffen และคณะ, 1998; Tran และ

คณะ, 2001; 2002; Yang และคณะ, 2004) อย่างไรก็ตาม มีบางการศึกษาที่พบความสัมพันธ์ของ *A. actinomycetemcomitans* กับโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง (van Winkelhoff และคณะ, 2002) และความสัมพันธ์ของ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* กับโรคปริทันต์อักเสบชนิดรุกราน (Yang และคณะ, 2004) ซึ่งข้อมูลความสัมพันธ์นี้ จำเป็นต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ดีขึ้นต่อไป

จากการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ทำในประเทศตะวันตก ซึ่งรายงานผลไปในทิศทางเดียวกันว่าคนที่ตรวจพบเชื้อจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคสูงกว่าคนที่ตรวจไม่พบเชื้อ อย่างไรก็ดี ในกลุ่มประชากรที่ต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกัน แต่ก็มีความเสี่ยงของการเกิดโรคปริทันต์อักเสบไม่เท่ากัน ตัวอย่างเช่น การศึกษาโดย Grossi และคณะ (1994) ในคนอายุ 25 ปีขึ้นไปที่อาศัยอยู่ในเมืองหนึ่งของประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าคนที่ติดเชื้อ *P. gingivalis* มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบเป็น 1.6 เท่าเมื่อเทียบกับคนที่ไม่ติดเชื้อ ขณะที่การติดเชื้อ *T. forsythia* ทำให้มีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นถึง 2.5 เท่า ขณะที่การศึกษาโดย Griffen และคณะ (1998) ในอีกเมืองหนึ่งของประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าการตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis* มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบสูงถึง 11.2 เท่า

สำหรับการศึกษาในกลุ่มประเทศแถบเอเชีย มีรายงานการศึกษาค่อนข้างน้อย ได้แก่ การศึกษาของ Papapanou และคณะ (1997; 2002) ซึ่งทำการศึกษาในกลุ่มประชากรชนบทของประเทศจีนและประเทศไทย ถึงแม้ว่าผลการศึกษาที่ได้จะสนับสนุนข้อมูลที่ได้จากประเทศตะวันตก แต่ระดับความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าคนที่มีเชื้อ *P. gingivalis* เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบใกล้เคียงกับคนที่ตรวจพบเชื้อ *T. forsythia* กล่าวคือมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นประมาณ 5 เท่าในคนจีน และประมาณ 3 เท่าในคนไทย ส่วน *A. actinomycetemcomitans* ซึ่งถูกตรวจพบในความชุกที่สูงนั้น ไม่ได้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบในประชากรกลุ่มนี้เลย นอกจากนี้การศึกษาทั้ง 2 นี้ไม่ได้มีการปรับความแตกต่างของตัวแปรรบกวนที่อาจมีผลต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ ดังนั้น ค่าความสัมพันธ์ที่แสดงออกมาจึงอาจสูงกว่าความเป็นจริง

โดยสรุป จากหลักฐานทางระบาดวิทยาที่ผ่านมา สนับสนุนความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ทั้ง 3 ชนิดและการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ อย่างไรก็ดี ระดับความสัมพันธ์ที่แสดงโดยค่าความอัตราส่วนความน่าจะเป็นมีความแตกต่างกันมากในแต่ละกลุ่มประชากรที่ศึกษา ดังนั้นการศึกษาทางระบาดวิทยาของโรคปริทันต์อักเสบในประเทศไทยจึงยังมีความจำเป็น โดยควรใช้วิธีการตรวจหาแบคทีเรียที่รวดเร็ว สามารถตรวจหาแบคทีเรียได้ในปริมาณที่ต่ำ ร่วมกับการใช้วิธีการทางสถิติมาช่วยในการปรับค่าตัวแปรรบกวนที่อาจมีอิทธิพลต่อโรคปริทันต์อักเสบเพื่อให้ได้

ค่าความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงความเป็นจริงอันจะเป็นประโยชน์ในการคัดแยกผู้ป่วยออกเป็นกลุ่มเสี่ยงสูงและกลุ่มเสี่ยงต่ำ และประกอบการตัดสินใจในการให้การรักษา และเฝ้าระวังโรคในกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงสูงต่อไป

ตารางที่ 3: เปรียบเทียบความสัมพันธ์ของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด

References	กลุ่มศึกษา	ปัจจัยที่ศึกษา (outcome)	ตัวแปร (exposure)	ความสัมพันธ์(association)	การปรับตัวแปรรบกวน (adjusted for confounders)
(Beck และคณะ, 1992) Cross-sectional	-สหรัฐอเมริกา	case:AL≥ 7 มม. อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง control: AL < 7 มม.	*Aa* *Pg*	NS OR = 2.5 (95%CI: 2.036-3.024)	-จำนวนซี่ฟัน -การไปพบทันตแพทย์ครั้งล่าสุด -*P.intermedia* -การสูบบุหรี่
(Grossi และคณะ, 1994) Cross-sectional	- สหรัฐอเมริกา	mean AL: 0-1, 1.1-2, 2.1-3, 3.1-4, 4.1-8	*Aa* *Pg* *Tf*	NS OR = 1.59 (95%CI: 1.11-2.25) OR = 2.45 (95%CI: 1.87-3.24)	-อายุ
(Alpagot และคณะ, 1996) Cross-sectional	- สหรัฐอเมริกา	AL PD	*Aa* *Pg*	NS r = 0.29 (sig) for AL NS for PD	
(Papapanou และคณะ, 1997) Cross-sectional	- จีน	PD≥ 5 มม.อย่างน้อย 3 ตำแหน่ง	*Aa* *Pg* *Tf*	NS OR = 5.13 (95% CI: 2.50-10.53) OR = 5.02 (95% CI: 2.48-10.16)	ไม่ได้ปรับ
(Papapanou และคณะ, 2002) Cross-sectional	-ไทย	PD≥ 5 มม.อย่างน้อย 3 ตำแหน่ง	*Aa* *Pg* *Tf*	NS OR = 3.5 (95% CI: 2.0-6.1) OR = 3.1 (95% CI: 1.9-5.0)	ไม่ได้ปรับ
(Griffen และคณะ, 1998) Case-control	-สหรัฐอเมริกา	case:AL≥7 มม. อย่างน้อย 3 ตำแหน่ง และ PD ≥ 6มม. อย่างน้อย 2 ตำแหน่ง control: AL และ PD < 5.5 มม. ทุกตำแหน่ง	*Pg*	OR = 11.2 (95% CI: 6.5-19.2)	ไม่ได้ปรับ
(van Winkelhoff และคณะ, 2002) Case-control	-เนเธอร์แลนด์	case: BL ≥ 50% อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง control: no bone loss	*Aa* *Pg* *Tf*	OR = 3.1 (95%CI: 1.5-6.3) OR = 12.3 (95%CI:5.8-26.2) OR = 10.4(95%CI:5.0-21.8)	case และ control ไม่ต่างกันในเรื่องอายุ เพศ ไม่มีข้อมูลเรื่องการสูบบุหรี่

Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Pg: Porphyromonas gingivalis, Tf: Tannerella forsythia , PD: Probing depth, AL: Attachment level, BL: Bone loss, GI: Gingival Index, OR: Odds Ratio, NS: no statistical significance, AP:Adult Periodontitis (ปัจจุบัน : Chronic Periodontitis), RPP: Rapidly Progressive Periodontitis (ปัจจุบัน: Aggressive Periodontitis)

case: กลุ่มศึกษา, control: กลุ่มควบคุม

ตารางที่ 3 (ต่อ) : เปรียบเทียบความสัมพันธ์ของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด

References	กลุ่มศึกษา	ปัจจัยที่ศึกษา (outcome)	ตัวแปร (exposure)	ความสัมพันธ์(association)	การปรับตัวแปรรบกวน (adjusted for confounders)
(Yang และคณะ, 2004) Case-control	-จีน	AP RPP	*Pg* *Tf* *Pg* *Tf*	OR = 25.0 (95%CI:12.5-50.0) OR = 2.6(95%CI:1.5-4.3) OR = 14.3(95%CI:6.7-33.3 OR = 2.2(95%CI:1.1-4.3)	ไม่ได้ปรับ
(Machtei และคณะ, 1997) longitudinal	-สหรัฐอเมริกา AP	Increased AL Increased PD	*Aa*-baseline>1% *Pg*-baseline>1% *Tf*-baseline>1%	NS OR= 6.15 (95% CI:1.22-31.1) OR= 7.84 (95% CI:1.74-35.3)	ไม่ได้ปรับ
(Tran และคณะ, 2001) longitudinal	-สหรัฐอเมริกา AP	Increased AL	*Aa* *Pg* *Tf*	NS NS OR= 5.3 (95% CI:1.3-22.5)	ไม่ได้ปรับ
(Timmerman และคณะ, 2000) longitudinal	-อินโดนีเซีย AgP	≥1 site with increased AL ≥ 2 mm	*Aa* *Pg*	OR = 4.61 NS	-อายุ -หินน้ำลายใต้เหงือก

Aa: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Pg: Porphyromonas gingivalis, Tf: Tannerella forsythia , PD: Probing depth, AL: Attachment level, BL: Bone loss, GI: Gingival Index, OR: Odds Ratio, NS: no statistical significance, AP:Adult Periodontitis (ปัจจุบัน : Chronic Periodontitis), RPP: Rapidly Progressive Periodontitis (ปัจจุบัน: Aggressive Periodontitis), AgP: Aggressive Periodontitis