ประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

น.ส.กันตพร คุณพนิชกิจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFICACY OF SILVER DIAMINE FLUORIDE IN REMINERALIZATION ON DENTINE CARIES LESIONS: *IN VITRO*

Miss Kantaporn Kunpanichakit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pediatric Dentistry
Department of Pediatric Dentistry
Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University
Academic Year 2018

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ
โดย	น.ส.กันตพร คุณพนิชกิจ
สาขาวิชา	ทันตกรรมสำหรับเด็ก
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์พิเศษ ทันตแพทย์หญิงชุติมา ไตรรัตน์วรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์ ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.สุชิต พูลทอง)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.อ้อยทิพย์ ชาญการค้า)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ศาสตราจารย์พิเศษ ทันตแพทย์หญิงชุติมา ไตรรัตน์วรกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.ณัฐนันท์ โกวิทวัฒนา)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

กันตพร คุณพนิชกิจ : ประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ. (
EFFICACY OF SILVER DIAMINE FLUORIDE IN REMINERALIZATION ON DENTINE CARIES LESIONS: *IN VITRO*) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ศ.(พิเศษ) ทพญ.ชุติมา ไตรรัตน์วรกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ทพญ. ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์,ศ. ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนม การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยใช้ชิ้นฟันตัวอย่างจากฟันกรามน้ำนมที่มีรอยผุตามธรรมชาติชั้นเนื้อฟันจำนวน 36 ชิ้น วัดความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุเริ่มต้นด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตรแล้วนำมาคำนวณความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย แบ่งชิ้นฟันเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ทา Saforide® (Toyo Seiyaku Kesei, Japan) กลุ่มที่ 2 ทา Advantage Arrest™ (Elevate Oral Care, USA) และกลุ่มที่ 3 ทาน้ำปราศจากไอออน (กลุ่มควบคุม) นำไปผ่านกระบวนการสลับกรด-ด่างโดยใช้เชื้อแบคทีเรียเพื่อจำลองสภาวะในช่องปากเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาวัดความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลองด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร คำนวณความลึกรอยผุ ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยและร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลอง ผลการทดลองพบว่าชิ้นฟันตัวอย่างกลุ่มที่ทา Saforide® และ Advantage Arrest™ มีความลึกรอยผุหลังการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p= 0.033 และ 0.021 ตามลำดับ) และมีความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p= 0.002 และ 0.002 ตามลำดับ) พบว่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุระหว่างกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันแต่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p< 0.001) สรุปได้ว่า Saforide® และ Advantage Arrest™ มีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนมใกล้เคียงกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สาขาวิชา	ทันตกรรมสำหรับเด็ก	ลายมือชื่อนิสิต .....
ปีการศึกษา	2561	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5975801032 : MAJOR PEDIATRIC DENTISTRY

KEYWORD: Remineralization, Lesion depth, Mineral density, Dentine caries lesions, Silver diamine fluoride

Kantaporn Kunpanichakit :

EFFICACY OF SILVER DIAMINE FLUORIDE IN REMINERALIZATION ON DENTINE CARIES LESIONS: *IN VITRO*. Advisor: Prof. Chutima Trairatvorakul, D.D.S., M.Sc. Co-advisor: Asst. Prof. Panida Thanyasrisung, D.D.S., Ph.D.,Prof. Tirayut Vilaivan, Ph.D.

The aim of this study was to compare the remineralization efficacy of two commercial silver diamine fluoride (SDF) products on dentine caries lesions in primary teeth, *in vitro*. Thirty-six blocks of primary molar with natural dentine caries lesions were measured to determine a mineral density (MD) at baseline using micro-computed tomography (micro-CT) and calculated for a lesion depth (LD) and a mean mineral density (meanMD). All samples were randomized into three groups: Group 1, Saforide® (Toyo Seiyaku Kesei, Japan); Group 2, Advantage Arrest™ (Elevate Oral Care, USA) and Group 3, Deionized water (control). After the samples underwent 5-days bacterial pH-cycling challenge, the MD of dentine caries lesions were re-evaluated. The LD, meanMD and the percentage of mineral density change (%MD-change) of each block were also calculated. The results showed that the LD decrease of Saforide® and Advantage Arrest™ groups were significantly lower than their baseline (p= 0.033 and 0.021, respectively) and the meanMD increase were significantly higher than their baseline (p= 0.002 and 0.002, respectively). The %MD-change of the two test groups were comparable, but significantly different from that of the control (p< 0.001). In conclusion, Saforide® and Advantage Arrest™ demonstrated similar remineralization efficacy on dentine caries lesions in primary teeth.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study: Pediatric Dentistry Student's Signature .....

Academic Year: 2018 Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์พิเศษ ทันตแพทย์หญิงชุติมา ไตรรัตน์วรกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พนิดา ธัญญศรีสังข์ และศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้สละเวลาให้การดูแลช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์และสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ชี้แนะข้อบกพร่องที่ควรปรับปรุงแก้ไขในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณบุคลากรศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก ศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุและอุปกรณ์ ตลอดจนให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบพระคุณฝ่ายทันตสาธารณสุข โรงพยาบาลเชียงคาน ที่เอื้อเฟื้อฟันตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิจัย

ขอรำลึกถึงพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ อบรมสั่งสอนและให้คำแนะนำอันดียิ่งทั้งในด้านการเรียน การทำงานและการดำเนินชีวิต

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณครอบครัว เพื่อน พี่ น้อง ที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการเรียนและการทำงานวิจัยเสมอมา ประโยชน์อันเกิดจากงานวิจัยนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งที่ได้เอ่ยนามและมิได้เอ่ยนาม ที่มีส่วนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กันตพร คุณพนิชกิจ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1

คำถามการวิจัย 2

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

สมมติฐานการวิจัย 2

รูปแบบการวิจัย 3

ขอบเขตการวิจัย 3

กรอบแนวคิดการวิจัย 3

ข้อตกลงเบื้องต้น 3

ข้อจำกัดการวิจัย 4

คำสำคัญ 4

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

ผลประโยชน์ทับซ้อน 4

ปัญหาจริยธรรม 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2 วรรณกรรมปริทัศน์ 6
โรคฟันผุ 6
การคืนกลับแร่ธาตุของรอยผุในชั้นเนื้อฟัน 9
ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Silver Diamine Fluoride) 10
ความปลอดภัยของการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ 14
บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย 16
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 16
หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา 16
การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง 17
อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 18
วัสดุที่ใช้ในการวิจัย 19
สิ่งแทรกแซง 19
ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 20
การเก็บฟัน 20
การเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง 20
การทาสารที่ทำให้เกิดการคืนกลับแร่ธาตุ 22
ขั้นตอนการจำลองสภาวะในช่องปาก 23
การวัดผลการทดลอง 27
การวิเคราะห์ข้อมูล 28
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย 30
ผลการศึกษา 30
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 33
อภิปรายผลการวิจัย 33
สรุปผลการวิจัย 36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม 37
ภาคผนวก 43
ภาคผนวก ก เอกสารผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ 44
ภาคผนวก ข เอกสารผลการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ 45
ภาคผนวก ค เอกสารสำหรับขอฟันเพื่อใช้ในการทำวิจัย 46
ภาคผนวก จ ส่วนประกอบของน้ำลายเทียม 48
ภาคผนวก ฉ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 49
ภาคผนวก ช รายละเอียดข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 50
ประวัติผู้เขียน 61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลิตภัณฑ์ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในปัจจุบัน..... 11

ตารางที่ 2 ระดับความลึกรอยผุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังการทดลอง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) 30

ตารางที่ 3 ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนการทดลอง หลังการทดลองและร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)..... 31

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย 3

รูปที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง..... 21

รูปที่ 3 แผนผังการเตรียมสารละลายที่ทำให้เกิดกรดโดยเชื้อแบคทีเรีย 25

รูปที่ 4 ขั้นตอนการจำลองสภาวะในช่องปาก..... 26

รูปที่ 5 กราฟแสดงระดับความลึกและความหนาแน่นแร่ธาตุในแต่ละช่วงความลึกของรอยโรค..... 27

รูปที่ 6 ตัวอย่างกราฟแสดงลักษณะความหนาแน่นแร่ธาตุที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่ม..... 32

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โรคฟันผุในเด็กปฐมวัย (Early childhood caries) เป็นปัญหาทันตสุขภาพที่สำคัญของเด็กไทยก่อนวัยเรียน จากแบบสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 8 (พ.ศ.2560) พบว่าเด็กอายุ 3 ปีมีความชุกของโรคฟันผุร้อยละ 52.9 มีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด 2.8 ซี่ต่อคน และเด็กอายุ 5 ปีมีความชุกของโรคฟันผุร้อยละ 75.6 มีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด 4.5 ซี่ต่อคน(1) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 7 (พ.ศ.2555) พบว่าในเด็กอายุ 3 ปีและ 5 ปี มีความชุกการเกิดโรคฟันผุลดลงเล็กน้อย และมีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุดไม่เปลี่ยนแปลงนัก(1, 2)

จากการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า ผลกระทบจากการที่เด็กมีโรคฟันผุและไม่ได้รับการรักษาคือ มีอาการปวด ติดเชื้อและนอนไม่หลับ ในเด็กที่มีฟันผุรุนแรงอาจมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการด้วย โดยพบว่าเด็กอายุ 3 ปีที่มีฟันผุและไม่ได้รับการรักษามีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มเปรียบเทียบและน้อยกว่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 50 เด็กบางส่วนที่มีปัญหาสิทธิ์ในการรักษาหรือการเข้าถึงบริการทางทันตกรรม ทำให้ได้รับการวินิจฉัยโรคและการรักษาที่ล่าช้า มักพบว่าเด็กกลุ่มนี้มีปัญหาเรื่องการปวดฟัน ปัญหาในการรับประทานอาหารและการนอนหลับ ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพชีวิตและการเจริญเติบโตและยังเพิ่มความเสี่ยงที่จะเกิดโรคฟันผุในชุดฟันแท้ด้วย(3)

ในอดีตการจัดการโรคฟันผุจะกำจัดเนื้อเยื่อส่วนที่มีรอยโรคออกทั้งหมดและแทนที่ด้วยวัสดุบูรณะ แต่ในปัจจุบันแนวคิดในการจัดการฟันผุเปลี่ยนไปเป็นวิธีที่มีการรุกรานน้อยที่สุดและยืดระยะเวลาในการทำหัตถการออกไปให้นานที่สุด โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อรักษาเคลือบฟันและเนื้อฟันที่ติดเชื้อแต่ยังไม่เกิดเป็นรูผุขึ้น(4) เมื่อแนวคิดในการจัดการฟันผุเปลี่ยนไป จึงมีการศึกษาถึงวิธีการจัดการฟันผุที่มีประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่ายน้อย เพื่อนำมาใช้จัดการรอยโรคฟันผุในเด็กกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงและมีความจำกัดในการเข้าถึงการรักษาทางทันตกรรม

ประเทศไทยในปัจจุบันยังมีทันตแพทย์เฉพาะทางสาขาทันตกรรมสำหรับเด็กจำนวนน้อยและกระจุกตัว เด็กในพื้นที่ห่างไกลไม่สามารถเข้าถึงการรักษาได้อย่างสะดวก ดังนั้นจึงควรหาวิธีการหยุดยั้งฟันผุที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้วิธีการหรือวัสดุอุปกรณ์ที่ซับซ้อน ทันตาภิบาลสามารถทำได้

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นสารที่ได้รับการรับรองจากกระทรวงสาธารณสุขประเทศญี่ปุ่นว่าสามารถหยุดยั้งรอยผุ ป้องกันการเกิดรอยผุทุติยภูมิ ช่วยลดอาการเสียวฟันได้และสามารถใช้งานได้ง่าย ไม่ต้องใช้ความชำนาญหรืออุปกรณ์พิเศษ จึงเป็นวิธีการที่เหมาะจะนำมาใช้ในชุมชนซึ่งการเข้าถึงบริการทางทันตกรรมยังจำกัด ส่วนในประเทศสหรัฐอเมริกา ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ร้อยละ 38 เป็นรูปแบบเดียวที่อนุญาตให้ใช้ได้โดยขึ้นทะเบียนเป็นสารที่ใช้ลดอาการเสียวฟัน แต่ก็ใช้เพื่อหยุดยั้งรอยโรคฟันผุด้วย(5)

สมาคมทันตกรรมสำหรับเด็กแห่งสหรัฐอเมริกา ได้พิจารณาถึงประโยชน์ของการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการหยุดยั้งรอยโรคฟันผุในฟันน้ำนมในกลุ่มผู้ป่วยเด็กเล็กและผู้ป่วยที่มีความต้องการพิเศษ เนื่องจากหากจะทำการรักษาทางทันตกรรมในผู้ป่วยกลุ่มนี้ มักต้องใช้การจัดการพฤติกรรมแบบใช้ยา เช่น การรักษาทางทันตกรรมภายใต้ยาคลายกังวลหรือดมยาสลบ ซึ่งเป็นวิธีที่มีความเสี่ยงและมีข้อจำกัดต่อสุขภาพและพัฒนาการของผู้ป่วยรวมถึงมีค่าใช้จ่ายสูง เมื่อพิจารณาถึงข้อดีของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่สามารถหยุดยั้งรอยโรคฟันผุได้มากกว่าการใช้ฟลูออไรด์เฉพาะที่ชนิดอื่น ๆ เป็นวิธีที่ไม่รุกรานและราคาไม่สูง(6-8) จึงมีคำแนะนำว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นสารที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้หยุดยั้งฟันผุในฟันน้ำนมในกลุ่มผู้ป่วยเด็กเล็กและผู้ป่วยที่มีความต้องการพิเศษ รวมถึงเป็นส่วนหนึ่งของการให้การรักษาทางทันตกรรมแบบพร้อมมูล(5)

ในปัจจุบันมีซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์หลากหลายยี่ห้อและหลากหลายความเข้มข้นวางจำหน่ายในท้องตลาด แต่จากการศึกษาพบว่าสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งรอยผุได้ดีที่สุด(9)

งานวิจัยนี้จึงทำขึ้นเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน

คำถามการวิจัย

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันแตกต่างกันหรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน

สมมติฐานการวิจัย

สมมติฐานหลัก (H_0) : ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ให้ผลในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานรอง (H_1) : ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ให้ผลในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันแตกต่างกัน

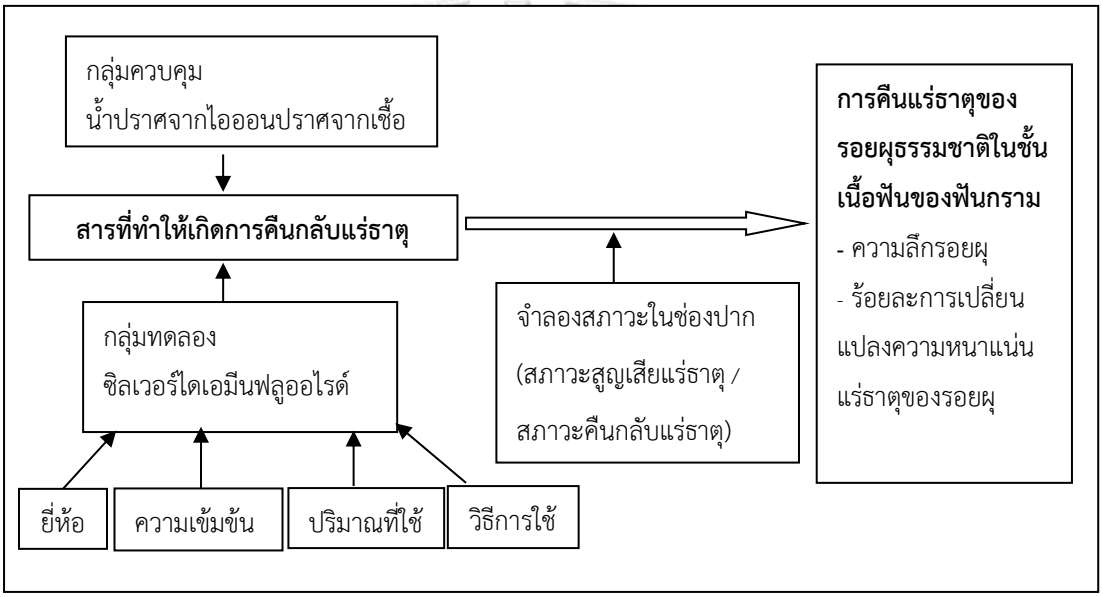
รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน ภายหลังการทารอยผุด้วยซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดและผ่านสภาวะช่องปากจำลองที่จำลองสภาวะสูญเสียแร่ธาตุโดยใช้เชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์*และ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ* สลับกับสภาวะคืนกลับแร่ธาตุโดยใช้น้ำลายเทียม

กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. ชิ้นฟันที่ใช้ในการวิจัยนี้ เป็นชิ้นฟันที่มีรอยผุตามธรรมชาติชั้นเนื้อฟันลึกระยะชั้นนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาชั้นเนื้อฟัน
2. ความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุที่วัดด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร เป็นการวัดโดยเปรียบเทียบกับความหนาแน่นของไฮดรอกซีอะพาไทต์
3. การเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง การเตรียมสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ การทดลอง การวัดความหนาแน่นแร่ธาตุและการแปลผล ทำโดยผู้วิจัยเพียงคนเดียว

ข้อจำกัดการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ จึงไม่สามารถทำให้ชิ้นฟันตัวอย่างอยู่ในสภาวะเดียวกับช่องปากที่แท้จริงได้ ผลการทดลองจึงไม่สามารถแทนการใช้งานจริงในผู้ป่วยได้ทั้งหมด

คำสำคัญ

1. การคืนแร่ธาตุ (Remineralization)
2. ความลึกรอยผุ (Lesion depth)
3. ความหนาแน่นแร่ธาตุ (Mineral density)
4. รอยผุชั้นเนื้อฟัน (Dentine caries lesions)
5. ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Silver diamine fluoride)
6. *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*)
7. *แลคโตบาซิลลัส เคซีไอ* (*Lactobacillus casei*)

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. ฟันตัวอย่าง คือฟันกรามน้ำนมของมนุษย์ที่ถอนด้วยเหตุผลทางทันตกรรม
2. ชิ้นฟันตัวอย่าง คือชิ้นฟันที่ตัดออกมาจากฟันกรามน้ำนมในส่วนที่มีรอยผุตามธรรมชาติในชั้นเนื้อฟันลึกระยะชั้นนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาชั้นเนื้อฟัน
3. ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด คือสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 จาก 2 ยี่ห้อจาก 2 บริษัทผู้ผลิต (Saforide®: Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan และ Advantage Arrest™: Elevate Oral Care, USA) ซึ่งมีฟลูออไรด์ 44,800 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และมีซิลเวอร์ 253,900 ส่วนในล้านส่วน (ppm)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อให้ทันตแพทย์สามารถเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดซึ่งมีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุ เพื่อนำไปใช้กับผู้ป่วยโดยเฉพาะในพื้นที่ที่การเข้าถึงบริการทางทันตกรรมยังจำกัด

ผลประโยชน์ทับซ้อน

การวิจัยนี้ไม่ได้รับการสนับสนุนจากผลิตภัณฑ์ใด ๆ จึงไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนในการทำวิจัย

ปัญหาจริยธรรม

ชิ้นฟันตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยนี้ตัดมาจากฟันกรามน้ำนมของมนุษย์ที่ถอนตามแผนการรักษาทางทันตกรรม โดยก่อนจะเก็บฟันตัวอย่างได้มีการขออนุญาตและได้รับความยินยอมจากผู้ครอบครองแล้ว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
วรรณกรรมปริทัศน์

โรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นหนึ่งในโรคของช่องปากที่มีความชุกในการเกิดมากที่สุด(10) เป็นโรคเรื้อรังที่มีสาเหตุการเกิดจากหลายปัจจัยร่วมกัน (multifactorial disease) ได้แก่ ตัวฟัน เชื้อแบคทีเรีย น้ำลาย อาหารประเภทแป้งและน้ำตาลโดยเฉพาะน้ำตาลซูโครส(11)

เชื้อกลุ่มแรกที่มาเกาะติดบนแผ่นคราบน้ำลายบนผิวเคลือบฟันและเคลือบรากฟันส่วนใหญ่ ได้แก่เชื้อกลุ่ม*สเตร็ปโตคอคคัส* (*Streptococcus spp.*) และ*แอคติโนมัยซิส* (*Actinomyces spp.*) (12) เชื้อแบคทีเรียในแผ่นคราบจุลินทรีย์โดยเฉพาะ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*) *สเตร็ปโตคอคคัส ซอไบรนัส* (*Streptococcus sobrinus*) และเชื้อในกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* (*Lactobacillus spp.*) จะเผาผลาญ (metabolism) และหมัก (fermentation) คาร์โบไฮเดรต ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก (lactic acid) กรดที่เกิดขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ลดลงต่ำกว่าค่าวิกฤติของเคลือบฟัน คือ 5.5 (13) เป็นผลให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุของผิวฟัน หากแผ่นคราบจุลินทรีย์ปกคลุมผิวเคลือบฟันเป็นเวลานานจะทำให้เคลือบฟันสัมผัสกรดเป็นเวลานาน เกิดการสูญเสียแร่ธาตุได้แก่ แคลเซียม ฟอสเฟตและคาร์บอเนตอย่างต่อเนื่องจนเกิดเป็นโพรงขึ้น (14)

สมมติฐานในการเกิดฟันผุที่ได้รับการยอมรับในปัจจุบันคือ สมมติฐานนิเวศวิทยาของคราบจุลินทรีย์ (Ecological plaque hypothesis) กล่าวคือ หากสภาพแวดล้อมมีสภาวะเป็นกรด ซึ่งเกิดจากกระบวนการเผาผลาญน้ำตาลดังกล่าวไว้ข้างต้น ชนิดของเชื้อที่พบในแผ่นคราบจุลินทรีย์ก็จะปรับเปลี่ยนไปเป็นกลุ่มที่สัมพันธ์กับการก่อโรคฟันผุ ซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรดและสามารถผลิตกรดได้มากขึ้น (15, 16)

ส่วนในชั้นเนื้อฟันนั้นจะมีการรวมกลุ่มและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียได้ต่อเมื่อชั้นเคลือบฟันเกิดการแตกหัก รอยโรคฟันผุในชั้นเนื้อฟันถูกควบคุมโดยเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นหลากหลายสายพันธุ์ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้สภาพแวดล้อมบริเวณรอยผุปราศจากออกซิเจน ทั้งสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดได้และสายพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรด เช่น *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ไบฟิโดแบคทีเรียม (Bifidobacterium spp.)* เชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* และยังพบแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถย่อยโปรตีนได้ ได้แก่ กลุ่ม*พรีโวเทลลา (Prevotellae spp.)* และ*โพรพิโอนิแบคทีเรียม* (*Propionibacterium spp.)*(17)

Becker และคณะได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่พบในรอยโรคฟันผุในเด็กปฐมวัย พบว่าเชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* เป็นเชื้อที่สัมพันธ์กับการเกิดฟันผุทุกระดับตั้งแต่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เคลือบฟันจนถึงชั้นเนื้อฟัน ในรอยผุระยะเริ่มแรกจะพบเชื้อในกลุ่ม*แอคติโนมัยซิส* เป็นจำนวนมาก ส่วนเชื้อในกลุ่ม*ไบฟิโดแบคทีเรียม*และ*แลคโตบาซิลลัส* จะพบในรอยโรคฟันผุที่เป็นโพรงและรอยผุในชั้นเนื้อฟัน(18)

สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เป็นเชื้อที่สัมพันธ์กับโรคฟันผุในเด็ก เนื่องจากเชื้อนี้จะเผาผลาญน้ำตาลซูโครสเพื่อให้ได้พลังงานและให้ผลผลิตพลอยได้ออกมาเป็นกรดแลคติก ซึ่งสามารถละลายเนื้อเยื่อแข็งของฟันได้ นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสร้างเอ็นไซม์มาย่อยน้ำตาลซูโครสแล้วได้พอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (extracellular polysaccharide) ที่ไม่ละลายน้ำขึ้น ซึ่งเชื้อนำมาใช้ในการยึดติดกับฟันและเกาะกลุ่มกันเองกลายเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์(19)

เชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* เป็นเชื้อที่พบได้น้อยในฟันผุระยะเริ่มแรก แต่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากรอยผุลึก เชื่อว่าเชื้อกลุ่มนี้เป็นเชื้อชนิดแรก ๆ ที่พบในรอยโรคที่กำลังดำเนินอยู่โดยเฉพาะรอยโรคในชั้นเนื้อฟัน(20) และยังพบว่าปริมาณเชื้อที่พบมีความสัมพันธ์กับขนาดของรอยโรค โดยจะพบเชื้อจำนวนมากในรอยโรคที่มีขนาดใหญ่(21) เชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* นี้ไม่สามารถสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันโดยตัวมันเองได้ แต่จะต้องอาศัยพอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ซึ่งผลิตโดยเชื้อกลุ่มอื่นโดยเฉพาะเชื้อในกลุ่ม*สเตร็ปโตคอคคัส* เพื่อใช้ในการยึดเกาะ พบว่าในสภาวะที่มีเชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* อยู่ด้วยจะเพิ่มความสามารถในการสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ของเชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* อย่างมีนัยสำคัญ(22) สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* คือ สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobe) มีสภาวะความเป็นกรด-ด่างต่ำ และมีคาร์โบไฮเดรตซึ่งเชื้อจะใช้ในการเผาผลาญและผลิตกรดแลคติก(23)

มีการศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อกลุ่ม*แลคโตบาซิลลัส* ในรอยโรคฟันผุมากมาย พบว่าสายพันธุ์เด่นที่พบได้ทั้งในผู้ใหญ่และเด็กได้แก่ *แลคโตบาซิลลัส เฟอร์เมนตัม* (*Lactobacillus fermentum) แลคโตบาซิลลัส แรมโนซุส (Lactobacillus rhamnosus) แลคโตบาซิลลัส แก็สเซอรี (Lactobacillus gasseri) แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ/พาราเคซิไอ (Lactobacillus casei/ paracasei) แลคโตบาซิลลัส ซาไลวาเรียส (Lactobacillus salivarius)* และ*แลคโตบาซิลลัส แพลนทารัม (Lactobacillus plantarum)*(23)

ในฟันของมนุษย์ เนื้อฟันเป็นส่วนที่มีปริมาณมากที่สุดแต่มีความหนาแน่นแร่ธาตุน้อยกว่าชั้นเคลือบฟัน(15) อาจกล่าวได้ว่าชั้นเนื้อฟันเป็นตัวกั้นที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (semipermeable barrier) ระหว่างชั้นเคลือบฟันและชั้นโพรงประสาทฟัน(24) เนื้อฟันมีความแตกต่างกับเคลือบฟันคือ ในชั้นเคลือบฟันมีแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 96 และสารอินทรีย์ร้อยละ 1 โดยมวล แต่ในชั้นเนื้อฟันจะมีแร่ธาตุอนินทรีย์เป็นองค์ประกอบร้อยละ 70 โดยมวล โดยมีไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นองค์ประกอบหลักและองค์ประกอบอินทรีย์ร้อยละ 20 โดยมวล ในองค์ประกอบอินทรีย์นั้นร้อยละ 90 ได้แก่ คอลลาเจน โดยชนิดหลักคือคอลลาเจนชนิดที่ 1(25) คอลลาเจนในชั้นเนื้อฟันทำหน้าที่เป็น

โครงสำหรับผลึกของแร่ธาตุ ซึ่งจะช่วยเสริมแรงและรองรับเคลือบฟันที่อยู่รอบ ๆ ผลึกของแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันมีขนาดเล็กกว่าในชั้นเคลือบฟัน โดยผลึกของแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันที่อยู่ใกล้โพรงประสาทฟันจะมีรูปร่างคล้ายเข็มและผลึกที่อยู่ใกล้ชั้นเคลือบฟันจะมีรูปร่างแบนขึ้น องค์ประกอบแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันจะช่วยจำกัดการซึมผ่านของกรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น มีความสามารถในการต้านทานความเปลี่ยนแปลงสภาวะกรด-ด่างและทำหน้าที่สะเทินกรดที่ผ่านเข้ามา ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อความแข็งของเนื้อฟันคือแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ ส่วนคอลลาเจนส่งผลต่อความเหนียวแต่ไม่ได้มีผลต่อความแข็งของเนื้อฟันโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญ(26) เมื่อกระบวนการเกิดฟันผุเกิดขึ้นในชั้นเนื้อฟัน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ และมีกลไกของการดำเนินโรคต่างจากการผุในชั้นเคลือบฟัน คือ การผุในชั้นเคลือบฟันนั้นเป็นการละลายของเนื้อเยื่อแข็งคือไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ประกอบด้วยแร่ธาตุปริมาณสูง(27) แต่การผุในชั้นเนื้อฟันจะรวมการสูญเสียแร่ธาตุและการย่อยสลายส่วนประกอบอินทรีย์ในโครงสร้างของเนื้อฟัน คือ โครงข่ายคอลลาเจนชนิดที่ 1 โดยจะเกิดการสูญเสียแร่ธาตุก่อนจากนั้นจึงเกิดการย่อยสลายโปรตีนตามมา(15)

เมื่อมีการผุในระยะเริ่มต้นของชั้นเนื้อฟัน พบว่าคอลลาเจนยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อการผุเข้าสู่ระยะที่รุนแรงขึ้น พบว่าเกิดการทำลายของโครงข่ายคอลลาเจนและเปลี่ยนไปเป็นรูปแบบที่ละลายน้ำได้ง่ายซึ่งจะสลายได้ง่ายในสภาวะที่เป็นกรด จากการศึกษาพบว่ากระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและการแตกหักของโครงข่ายคอลลาเจนเกิดขึ้นเป็นระยะต่อเนื่องกัน ในระยะแรกแร่ธาตุในเนื้อฟันจะถูกละลายจากผิวด้านนอกในขณะที่เส้นใยคอลลาเจนยังคงประสาน (cross-banding) กันอยู่ โดยจะทำหน้าที่คล้ายแกนหลักให้แบคทีเรียมาเกาะและเพิ่มจำนวน ในระยะต่อมาเอนไซม์โปรติโอไลติค (proteolyic enzyme) จะทำให้โครงข่ายคอลลาเจนที่เผยผึ่งคลายตัว(15)

ในขณะที่ชั้นเคลือบฟันมีค่ากรด-ด่างวิกฤติ (critical pH) คือ 5.5 แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างวิกฤติของเนื้อฟันคือ 6.7 (28) เมื่อเกิดรอยโรคฟันผุขึ้นในชั้นเนื้อฟันจึงมีการลุกลามได้อย่างรวดเร็วกว่าชั้นเคลือบฟัน

มีสมมติฐานเกี่ยวกับฟันผุในชั้นเนื้อฟันว่า การที่แบคทีเรียผลิตกรดขึ้นไม่เพียงแต่เป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและเกิดการเผยผึ่งของโครงสร้างอินทรีย์ในชั้นเนื้อฟันเท่านั้น แต่ยังเป็นการกระตุ้นเนื้อฟันที่ฝังอยู่ เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (metrix metalloproteinases: MMPs) และคาเทปซิน (cathepsins) อีกด้วย(15)

การที่เนื้อฟันมีองค์ประกอบอินทรีย์ทั้งคอลลาเจนและส่วนที่ไม่ใช่คอลลาเจน ทำให้กรดเพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้เกิดรอยโรคในชั้นเนื้อฟันได้ แต่ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนสเพื่อย่อยสลายโปรตีน ภายหลังจากที่เนื้อฟันมีการสูญเสียแร่ธาตุจากกรดแล้ว คอลลาเจนจะถูกตัดเป็นสายสั้น ๆ และย่อยสลายด้วย MMP-8 (neutrophil collagenase) MMP-2

(gelatinase A) และ MMP-9 (gelatinase B) ซึ่ง MMP เหล่านี้โดยปกติจะมีอยู่ในน้ำลาย โพรงประสาทฟันหรือในเนื้อฟันและจะหลั่งออกมาระหว่างเนื้อฟันกำลังถูกทำลาย (27)

เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและโครงสร้างระดับจุลภาคของรอยโรคฟันผุในชั้นเนื้อฟัน พบว่าชั้นเนื้อฟันที่มีการสูญเสียแร่ธาตุมีค่าความยืดหยุ่น (elastic modulus) ลดลงจากเนื้อฟันปกติ ขอบเขตของรอยโรคที่มีการสูญเสียแร่ธาตุมากที่สุดจะมีแร่ธาตุร้อยละ 25 ของเนื้อฟันปกติและยังพบว่าการที่เนื้อฟันสัมผัสกับกรดจะทำให้เกิดรูพรุนเล็ก ๆ ขึ้น(29)

โรคฟันผุจะมีการดำเนินโรคต่อ หยุดยั้งหรือกลับเป็นใหม่นั้น ขึ้นกับสมดุลระหว่างการสูญเสียแร่ธาตุและการคืนกลับแร่ธาตุ การคืนกลับแร่ธาตุจะเกิดขึ้นเมื่อความเป็นกรด-ด่างในแผ่นคราบจุลินทรีย์ถูกสะเทินโดยน้ำลาย แต่เมื่อใดที่เกิดการสูญเสียแร่ธาตุไปทั้งหมด กระบวนการคืนกลับแร่ธาตุจะไม่สามารถเกิดขึ้นได้อีก(30)

ในปัจจุบัน การรักษาโรคฟันผุไม่ได้มุ่งเน้นที่การบูรณะตัวฟันที่ถูกทำลายเท่านั้นเนื่องจากไม่ใช่วิธีที่จะควบคุมรอยโรคได้สำเร็จ แต่มุ่งเน้นไปที่การหยุดยั้งหรือป้องกันการลุกลามของรอยโรคด้วยการส่งเสริมให้มีการคืนแร่ธาตุของรอยโรค เพื่อให้ฟันสามารถใช้งานได้ มีความแข็งแรงและยังรวมถึงการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียด้วย(31)

การคืนกลับแร่ธาตุของรอยผุในชั้นเนื้อฟัน

กระบวนการคืนกลับแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันมีความแตกต่างจากชั้นเคลือบฟัน เนื่องจากชั้นเนื้อฟันมีผลึกที่เล็กกว่าและมีองค์ประกอบอินทรีย์มากกว่าชั้นเคลือบฟัน

กุญแจสำคัญที่จะช่วยในการคืนกลับแร่ธาตุและหยุดยั้งรอยผุคือป้องกันการละลายของแร่ธาตุ จากการศึกษาของ Daculsi และคณะในปี 1979 และจากการศึกษาของ Klont และ ten Cate ในปี 1991 พบว่าการคืนกลับแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันเกิดจากการตกตะกอนบนผลึกที่เหลืออยู่ในรอยโรค เมื่อแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันมีการทับถมกันบนผลึกก็จะทำให้โครงสร้างอินทรีย์ถูกย่อยสลายได้ยากขึ้น ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการหยุดยั้งรอยผุ(32, 33) นอกจากนั้นยังต้องอาศัยแหล่งของแร่ธาตุ (supply mineral source) ได้แก่แคลเซียมและฟอสเฟต รวมทั้งต้องมีคอลลาเจนที่ปกติเพื่อทำหน้าที่เป็นโครงข่าย (scaffold) ให้แร่ธาตุยึดเกาะ(34, 35)

ฟลูออไรด์มีบทบาทสำคัญในการรักษาพื้นผิวของชั้นเนื้อฟันระหว่างที่เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ เมื่อเนื้อฟันที่มีรอยผุสัมผัสกับฟลูออไรด์ ฟลูออไรด์จะถูกดูดซึมเข้าสู่พื้นผิวของผลึกในเนื้อฟันและสร้างเป็นผลึกฟลูออราพาไทต์ซึ่งมีความต้านทานต่อการทำลายโดยกรด ทำให้ยับยั้งการละลายของแร่ธาตุและส่งเสริมการคืนกลับแร่ธาตุ นอกจากนั้นฟลูออไรด์ยังยับยั้งการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อิโนเลส (enolase enzyme)(36, 37) อย่างไรก็ตาม บทบาทสำคัญของ

ฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุคือความสมดุลของปริมาณฟลูออไรด์ไอออนระหว่างกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและการคืนกลับแร่ธาตุ(38)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Silver Diamine Fluoride)

ประเทศญี่ปุ่นได้นำซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์มาใช้ในทางทันตกรรมตั้งแต่ ค.ศ.1969 เพื่อหยุดยั้งรอยโรคฟันผุในฟันน้ำนม และได้รับการยอมรับจากสภาเภสัชกรรมกลาง กระทรวงสุขภาพและสวัสดิการของประเทศญี่ปุ่นตั้งแต่ ค.ศ.1970 ว่าเป็นสารที่ใช้ในการรักษา(39) ในปี ค.ศ.2014 องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้รับรองให้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดได้โดยขึ้นทะเบียนเป็นเครื่องมือแพทย์(40) และยังนำมาใช้หยุดยั้งรอยผุในฟันกรามแท้ซี่ที่หนึ่งในวัยรุ่นและรอยผุบริเวณรากฟันในผู้ใหญ่ด้วย(41)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นสารละลายใส ไม่มีสี เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะหนัก (42) จากการที่แอมโมเนียมไอออนจับกับซิลเวอร์ไอออน เรียกว่าแอมมีนซิลเวอร์ไอออน ซึ่งมีความเสถียรมากและอยู่ในสภาวะสมดุล(43, 44) ทำให้สามารถเก็บไว้ได้นานโดยมีความเข้มข้นที่คงตัว เมื่อทาบนรอยโรคฟันผุและมีการสัมผัสกับสารรีดิวซ์ อากาศและแสงแดดจะเกิดสีดำขึ้น(8) ผลิตภัณฑ์ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในแต่ละประเทศที่ผลิตออกมาในปัจจุบันมีหลากหลายความเข้มข้น จากการศึกษาพบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งรอยผุได้ดีที่สุด(9) และเป็นความเข้มข้นเดียวที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา(5)

สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ประกอบด้วย ซิลเวอร์ไอออน 253,900 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และฟลูออไรด์ไอออน 44,800 ส่วนในล้านส่วน (ppm) มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 8-10(34, 40) ในสารละลาย 1 มิลลิลิตรประกอบด้วยซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ($Ag(NH_3)_2F$) 380 มิลลิกรัม หรือร้อยละ 38 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร(39) คิดเป็นซิลเวอร์ร้อยละ 24.4-28.8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและฟลูออไรด์ร้อยละ 5.0-5.9 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร(45)

ตารางที่ 1 ผลิตภัณฑ์ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในปัจจุบัน (40, 46)

ชื่อผลิตภัณฑ์	บริษัทผู้ผลิต/ผู้จัดจำหน่าย	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ประเทศที่ผลิต
Cariostatic®	Inodon Labratorio	10	บราซิล
Cariestop®	Biodinâmica Quimica e Farmaceutica Ltda	12	บราซิล
Cariestop®	Biodinâmica Quimica e Farmaceutica Ltda	38	บราซิล
Bioride®	Dentsply Industria e Comercio Ltda	30	บราซิล
Saforide®	J. Morita; Toyo Seiyaku Kasei Ltd.	38	ญี่ปุ่น
FluoroplatV	Laboratorios Naf	38	อาร์เจนตินา
Advantage Arrest™	Elevate Oral Care	38	สหรัฐอเมริกา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Yamaga และคณะได้ทำการศึกษาผลการหยุดยั้งรอยผุในชั้นเนื้อฟันน้ำนมเมื่อทาสารชนิดต่าง ๆ ติดตามผลที่ 3 และ 6 เดือน พบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ให้ผลในการหยุดยั้งฟันผุได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสแตนนัสฟลูออไรด์และซิลเวอร์ไนเตรต (39)

ในประเทศจีนมีการนำซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ร้อยละ 38 มาใช้ในการหยุดยั้งรอยผุของฟันหน้าน้ำนมบนที่ผุถึงชั้นเนื้อฟันในเด็กปฐมวัยเปรียบเทียบกับการใช้โซเดียมฟลูออไรด์วาร์นิชความเข้มข้นร้อยละ 5 เมื่อติดตามผล 18 เดือนพบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ให้ผลดีกว่า และไม่มีความจำเป็นต้องกำจัดรอยผุออกก่อนเนื่องจากพบว่าการกำจัดหรือไม่กำจัดรอยผุก่อนทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ให้ผลในการหยุดยั้งรอยผุในฟันน้ำนมไม่แตกต่างกัน(7, 8) จากการศึกษาของ dos Santos

ในเด็กบราซิล พบว่ารอยผุที่ได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์มีการหยุดยั้งมากกว่ากลุ่มที่ทำการบูรณะด้วยกลาสไอโอโนเมอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(47)

จากการศึกษาของ Fung และคณะในปี 2016 เกี่ยวกับความถี่ในการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เพื่อหยุดยั้งรอยผุ พบว่าการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ทุก 6 เดือน ให้ผลในการหยุดยั้งรอยผุดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการทาปีละ 1 ครั้ง และการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 12 ปีละ 2 ครั้งและปีละ 1 ครั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(9)

กระบวนการหยุดยั้งรอยผุและคืนแร่ธาตุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เกิดกับฟันและส่วนที่เกิดกับแบคทีเรีย

ปฏิกิริยาที่เกิดกับฟัน

สูตรทางเคมีของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์คือ $Ag(NH_3)_2F$ เมื่อทาบนรอยผุ จะเกิดปฏิกิริยากับส่วนประกอบหลักของฟันคือไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ดังสมการ

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + Ag(NH_3)_2F \longrightarrow CaF_2 + Ag_3PO_4 + NH_4OH$$

จากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะได้ผลิตภัณฑ์หลัก 2 ตัวคือแคลเซียมฟลูออไรด์ (CaF_2) และซิลเวอร์ฟอสเฟต (Ag_3PO_4) ซึ่งทนต่อการละลาย โดยแคลเซียมฟลูออไรด์จะเป็นแหล่งกักเก็บฟลูออไรด์ไอออน ส่วนซิลเวอร์ฟอสเฟตจะเป็นแหล่งกักเก็บฟอสเฟตไอออน ฟลูออไรด์เป็นสารที่ใช้ในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างจากไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นฟลูออราพาไทต์ซึ่งมีความต้านทานต่อกรดมากขึ้น (48)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

น้ำลายมีบทบาทสำคัญในกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุของรอยผุ เนื่องจากน้ำลายมีคุณสมบัติในการคงค่าความเป็นกรด-ด่าง (buffer) ในน้ำลายยังอุดมไปด้วยแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์และสร้างฟลูออราพาไทต์ขึ้นได้ (41)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์มีผลต่อองค์ประกอบอินทรีย์ในชั้นเนื้อฟัน นั่นคือซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สามารถป้องกันการย่อยสลายของโครงข่ายคอลลาเจน โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้สลายคอลลาเจนเช่น MMP-2, MMP-8, MMP-9 พบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 สามารถยับยั้งการทำงานของ MMP-2, MMP-8 และ MMP-9 ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 และ 12 ซิลเวอร์ไนเตรตร้อยละ 30 และโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ 10 (16)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สามารถแทรกซึมเข้าสู่เคลือบฟันปกติได้ประมาณ 20 ไมครอน ส่วนในชั้นเนื้อฟัน ฟลูออไรด์ไอออนสามารถแทรกซึมเข้าสู่เนื้อฟันได้ 50-100 ไมครอนและซิลเวอร์

ไอออนสามารถแทรกซึมได้ลึกถึงระดับใกล้โพรงประสาทฟัน(39) พบว่าการให้ฟลูออไรด์ไอออนและซิลเวอร์ไอออนแบบเฉพาะที่แก่เคลือบฟันและเนื้อฟันที่สูญเสียแร่ธาตุไปแล้ว ทำให้เคลือบฟันและเนื้อฟันนั้นมีความหนาแน่นแร่ธาตุเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่เนื้อเยื่อแข็งมีอะพาไทต์เพิ่มขึ้นและโลหะเงินตกตะกอนภายในเนื้อเยื่อแข็ง(36)

จากการศึกษาพบว่ารอยผุที่ได้รับการทาฟลูออไรด์เฉพาะที่จะมีความแข็งของรอยผุเพิ่มขึ้น (26) และพบว่ารอยผุในชั้นเนื้อฟันน้ำนมที่ได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์มีแร่ธาตุซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมและฟอสเฟตสูงกว่าชั้นเนื้อฟันด้านในที่ไม่ผุ นอกจากนั้นยังพบว่ารอยโรคฟันผุที่หยุดยั้งแล้วจะมีการเรียงตัวของผลึกที่เป็นระเบียบมากกว่ารอยโรคฟันผุที่ลุกลาม รวมทั้งมีการป้องกันการเผยผึ่งของคอลลาเจน(49) รูปร่างของผลึกที่เปลี่ยนไปมีความเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ เมื่อศึกษาผลของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ต่อผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ผลึกอะพาไทต์ที่ไม่ได้สัมผัสซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์จะมีลักษณะแบน แต่ผลึกที่สร้างขึ้นเมื่อมีการสัมผัสกับซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์จะมีลักษณะเป็นแท่ง ปลายมน โดยหากความเข้มข้นของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สูงขึ้น ผลึกที่เกิดขึ้นจะมีความยาวและหนามากขึ้น และยังพบว่าอัตราส่วนของฟลูออไรด์/แคลเซียม, ฟลูออไรด์/ฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สูงขึ้น (41)

ผลที่เกิดกับแบคทีเรีย

เมื่อซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีอะพาไทต์ ได้ซิลเวอร์ฟอสเฟตและแคลเซียมฟลูออไรด์ ซิลเวอร์ฟอสเฟตจะแตกตัวให้ซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยผ่าน 3 กลไกหลักคือ 1. ทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย 2.ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของเอ็นไซม์ในไซโทพลาสซึม 3.ยับยั้งกระบวนการถ่ายแบบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย(48) ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย โดยฟลูออไรด์จะยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่เชื้อแบคทีเรียใช้ในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลเช่น เอนไซม์อิโนเลส (enolase) ส่วนซิลเวอร์จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (glucosyltransferase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยน้ำตาลซูโครสและสร้างกลูแคน (glucan) เพื่อใช้ในการยึดเกาะของเชื้อกับผิวฟัน เมื่อเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถผลิตสารตั้งต้นที่ใช้ในการยึดเกาะผิวฟันได้ จึงไม่สามารถสร้างแผ่นชีวภาพขึ้นบนผิวฟัน(50)

จากการศึกษาพบว่าเนื้อฟันผุที่ทาด้วยซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ มีการเจริญของเชื้อ *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ(51) นอกจากนั้นยังมีการทดลองผลของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ต่อการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์, สเตร็ปโตคอคคัส ซอไบรนัส , แลคโตบาซิลัส เอซิโดฟิลลัส (Lactobacillus acidophilus), แลคโต*

บาซิลัส แรมโนซุส และ *แอคติโนมัยซิส แนสลันดิไอ (Actinomyces naeslundii)* พบว่าจำนวนเชื้อลดลงหลังจากการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์(50) และยังพบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อ *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์, สเตร็ปโตคอคคัส ออราลิส (Streptococcus oralis)* และ*แลคโตบาซิลัส เคซีไอ* ลดลง(52)

ความปลอดภัยของการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์

ในการใช้สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ 1 หยด (25 ไมโครลิตร) สามารถทาฟันได้ประมาณ 5 ซี่ จะมีซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ 9.5 มิลลิกรัม(40) คิดเป็นปริมาณซิลเวอร์ (Ag^+) 7.2 มิลลิกรัมและฟลูออไรด์ (F^-) 1.475 มิลลิกรัมโดยประมาณ

ปริมาณซิลเวอร์ที่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันและเสียชีวิตเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Oral lethal dose: Oral LD_{50}) คือ 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม(53) ส่วนปริมาณฟลูออไรด์ที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดอาการแสดงของพิษอย่างเฉียบพลันเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Probably toxic dose: PTD) คือ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม(54)

ในเด็กอายุ 1, 2 และ 3 ปี ซึ่งมีน้ำหนักตัว 10, 12 และ 14 กิโลกรัมโดยประมาณ จะมีค่า LD_{50} ของซิลเวอร์เท่ากับ 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมตามลำดับ และค่า PTD ของฟลูออไรด์เท่ากับ 50, 60 และ 70 มิลลิกรัมตามลำดับ หากใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในเด็กกลุ่มนี้ซึ่งมีฟันผุทุกซี่ (20 ซี่) ในช่องปากจะต้องใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ 4 หยดหรือ 100 ไมโครลิตร คิดเป็นปริมาณซิลเวอร์ 28.8 มิลลิกรัมซึ่งต่ำกว่าค่า LD_{50} ของเด็กทั้งสามช่วงอายุและปริมาณฟลูออไรด์ 5.9 มิลลิกรัมซึ่งต่ำกว่าค่า PTD ของเด็กทั้งสามช่วงอายุเช่นกัน การใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ในผู้ป่วยเด็กจึงมีความปลอดภัย

มีการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของฟลูออไรด์และซิลเวอร์ในเลือดของอาสาสมัครภายหลังการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 โดยวัดที่เวลา 30 นาที 1 2 3 และ 4 ชั่วโมงหลังทาสาร พบว่าสามารถวัดความเข้มข้นฟลูออไรด์ในเลือดได้สูงสุด 1.86 ไมโครโมล/ลิตร และวัดความเข้มข้นของซิลเวอร์ได้สูงสุด 206 นาโนโมล/ลิตร ซึ่งความเข้มข้นสูงสุดของสารทั้งสองที่วัดได้มีค่าอยู่ในระดับต่ำกว่าค่าที่จะเป็นพิษ(45) บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้บ้วนปากด้วยน้ำเปล่าหรือน้ำเกลือภายหลังการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เพื่อกำจัดสารละลายส่วนเกิน และการทาวาสลีนบริเวณเหงือกและเยื่อบุช่องปาก การใส่แผ่นยางกั้นน้ำลาย จะช่วยให้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ไม่สัมผัสโดนเหงือกและเยื่อบุช่องปาก(48) อย่างไรก็ตามมีรายงานการเกิดรอยโรคสีขาวขนาดเล็กบริเวณเนื้อเยื่อที่สัมผัสโดยตรงกับสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ มีอาการเจ็บเล็กน้อย สามารถหายได้เองภายใน 48 ชั่วโมงโดยไม่ต้องให้การรักษาใด ๆ(55) ข้อด้อยหลักของการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คือติดสีดำบริเวณที่ทา ซึ่งเด็กและผู้ปกครองอาจไม่พอใจในเรื่องความสวยงามและอาจมีรสชาติของโลหะซึ่งอาจทำให้เด็กไม่ยอมรับ(8)

เมื่อพิจารณาถึงประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้ป่วยและความปลอดภัยแล้ว สมาคมทันตกรรมสำหรับเด็กแห่งสหรัฐอเมริกาจึงได้เสนอให้การใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการรอยโรคฟันผุในกลุ่มผู้ป่วยเด็กเล็กและผู้ป่วยที่มีความต้องการพิเศษ รวมถึงเป็นส่วนหนึ่งของการให้การรักษาทางทันตกรรมแบบพร้อมมูล(5)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3
การดำเนินการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรเป้าหมาย
ฟันน้ำนมที่มีรอยผุชั้นเนื้อฟัน

ประชากรตัวอย่าง
ฟันกรามน้ำนมซี่ที่หนึ่งหรือสองของขากรรไกรบนหรือล่างที่มีรอยผุชั้นเนื้อฟัน

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา
ชิ้นส่วนของฟันกรามน้ำนมที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้าในการเลือกตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างเข้างานวิจัย
ชิ้นส่วนฟันกรามน้ำนมซี่ที่ 1 และ 2 ของขากรรไกรบนและล่างในบริเวณที่มีรอยผุชั้นเนื้อฟันในระยะชั้นนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาชั้นเนื้อฟัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างออกจากงานวิจัย
ชิ้นส่วนของฟันกรามน้ำนมซี่ที่ 1 และ 2 ของขากรรไกรบนและล่างที่มีลักษณะดังต่อไปนี้

- มีรอยโรคฟันผุซึ่งหยุดลุกลามแล้ว
- มีรอยผุจำกัดอยู่ในชั้นเคลือบฟัน
- บริเวณที่มีรอยผุทะลุโพรงประสาทฟัน
- มีรอยร้าว
- มีวัสดุบูรณะ
- มีความผิดปกติของการสร้างฟัน
- ฟันที่มีขนาดเล็ก ไม่สามารถเตรียมชิ้นฟันได้ตามวิธีการเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง

การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยี่ห้อต่าง ๆ ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันมาก่อน งานวิจัยนี้จึงคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยอ้างอิงจากผลการศึกษาของ Mei และคณะในปี 2013(34) เป็นการศึกษาผลของการใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 (Saforide® : Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan) ในการยับยั้งรอยผุในชั้นเนื้อฟันและการเสียสภาพของคอลลาเจนเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือน้ำปราศจากไอออน ซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ วัดความลึกของรอยผุโดยใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร (micro-CT) ผลการศึกษาพบว่าชิ้นฟันตัวอย่างกลุ่มที่ทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ มีความลึกรอยผุเฉลี่ย 182 ± 32 ไมโครเมตร ส่วนกลุ่มควบคุมซึ่งทาด้วยน้ำปราศจากไอออนมีความลึกรอยผุเฉลี่ย 265 ± 40 ไมโครเมตร กำหนดให้สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 (Saforide® : Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd. , Japan) เป็นสารมาตรฐานสูงสุด (gold standard) แต่ในงานวิจัยนี้ต้องการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยี่ห้ออื่นที่นอกเหนือไปจากสารมาตรฐานสูงสุด ซึ่งยังไม่มีผู้ทำการศึกษามาก่อน ดังนั้นจึงกำหนดให้ความแตกต่างระหว่างความลึกรอยผุเฉลี่ยในกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ 50 ของความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ใช้สารมาตรฐานสูงสุดกับกลุ่มควบคุม ถือเป็นค่าที่ยอมรับได้

การศึกษานี้กำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ไม่ยอมรับสมมติฐานเป็นจริง (Type I error, α) เท่ากับ 0.05 และกำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับสมมติฐานที่ไม่เป็นจริง (Type II error,β) เท่ากับ 0.2 คำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตรจากโปรแกรม n4Studies โดยเลือกใช้ค่าเฉลี่ย 2 ค่าที่เป็นอิสระต่อกัน (Two independent means) ในการคำนวณ(56)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

$$\text{จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม} = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2[\sigma_1^2+(\sigma_2^2)/r]}{(D \times 0.5)^2}$$

โดย

σ = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

r = อัตราส่วนระหว่างจำนวนตัวอย่างกลุ่มที่ 2 ต่อกลุ่มที่ 1 ในการวิจัยนี้กำหนดให้จำนวนกลุ่มตัวอย่างทุกกลุ่มเท่ากัน (r = 1)

D = ความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มสารละลายที่เป็นมาตรฐานสูงสุดกับกลุ่มควบคุม

$Z_{1-\alpha/2}$ = 1.96

$Z_{1-\beta}$ = 0.84

ได้จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม $= \dfrac{(1.96 + 0.84)^2[32^2 + (40^2)/1]}{[(265-182)x0.5]^2}$

$= 11.94$ ชิ้น

งานวิจัยนี้จึงใช้จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม 12 ชิ้น

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องชั่งสาร (Denver instrument XL 3100,USA)
2. เครื่องกวนสารก่อนการใช้งานด้วยแม่เหล็ก (Hot plate stirrer,Framo®-Gerätetechnik, Germany)
3. ตู้อบเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Forma™ SteriCycle™ CO_2 Incubators,Thermo Scientific, USA)
4. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar airflow biosafety cabinet รุ่น NU-440,Nuaire,USA)
5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (GENESYS™ 20 Visible Spectrophotometer, Thermo Scientific, USA)
6. เครื่องตัดความเร็วต่ำ (slow speed cutting machine, Isomer 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, USA)
7. เครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร (μCT35,SCANCO, Switzerland)
8. หม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave, Tuttnauer, USA)
9. ตู้แช่ควบคุมอุณหภูมิ (Canon Ball manufacturing, Thailand)
10. เครื่องเขย่า (Labnet VX 100, MO BIO laboratories, USA)
11. บีกเกอร์
12. กระบอกตวง
13. ฟลาสก์
14. แท่งแก้วคนสาร
15. เทอร์มอมิเตอร์
16. กรวยแก้ว
17. หลอดแก้วทดลอง
18. จานเพาะเชื้อ
19. ด้ามลวดรูปห่วงสำหรับเขี่ยเชื้อ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

20. ปิเปตอัตโนมัติปริมาตร 20, 200 และ1000 ไมโครลิตร
21. คิวเวท (cuvette)
22. ลูกแก้ว (glass bead) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร

วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

1. น้ำปราศจากไอออน
2. เชื้อ*สเตร็ปโตค็อกคัส มิวแทนส์ (Streptococcus mutans)* สายพันธุ์ ATCC25175
3. เชื้อ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ (Lactobacillus casei)* สายพันธุ์ IFO3533
4. อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลวชนิดทริปติก ซอย (Tryptic Soy Broth, HiMedia, India)
5. อาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดทริปติก ซอย (Tryptic Soy Agar, HiMedia, India)
6. สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract powder, HiMedia, India)
7. น้ำตาลซูโครส (Sucrose Uniar®, Ajax Finechem, Australia)
8. น้ำตาลกลูโคส (D-glucose andydrous®, Fisher Scientific, England)
9. น้ำลายเทียมชนิดไม่มีฟลูออไรด์ (ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
10. หลุมพลาสติก
11. พู่กันทาสาร
12. ถาดหลุมสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม (24-well plate, Thermo Fisher Scientific, China)
13. เรซิ่นหล่อแบบชนิดใส
14. น้ำยาทาเล็บ (Revlon, New York, USA)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สิ่งแทรกแซง

1. สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ร้อยละ 38 (Saforide®: Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan) (Lot number 701 RA)
2. สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ร้อยละ 38 (Advantage Arrest™: Elevate Oral Care, USA) (Lot number 17104)
3. น้ำปราศจากไอออน (ฝ่ายวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

การเก็บฟัน

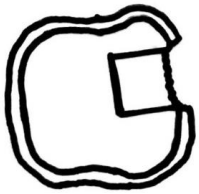
เก็บฟันกรามน้ำนมในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง (รูปที่ 2)

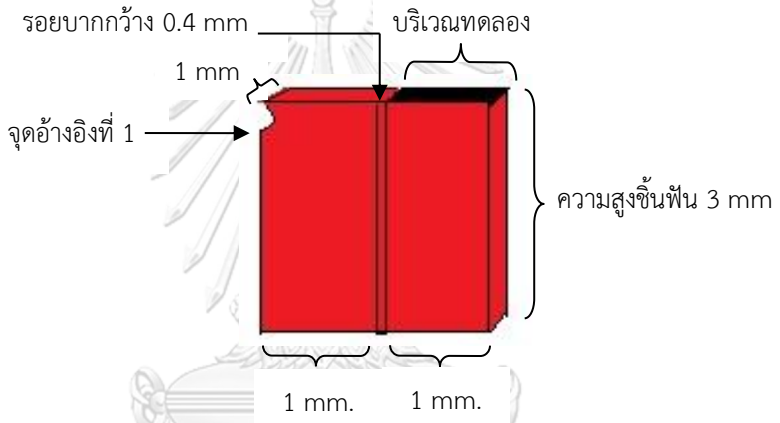
1. ล้างทำความสะอาดฟันกรามน้ำนม ขูดเนื้อเยื่อรอบ ๆ ออกให้สะอาด
2. ตัดฟันด้วยเครื่องตัดฟันชนิดความเร็วต่ำ (slow speed cutting machine) ตัดฟันด้านบดเคี้ยวโดยวัดจากยอดฟัน 1.5 มิลลิเมตร (รูปที่ 2-ข) ตัดให้ชิ้นส่วนของฟันด้านที่มีรอยผุมีความกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 2.4 มิลลิเมตร และทั้งชิ้นฟันสูง 3 มิลลิเมตร ทำรอยบากกึ่งกลางชิ้นฟันด้านหน้าตามความสูงของชิ้นฟันกว้าง 0.4 มิลลิเมตรตลอดแนวเพื่อแบ่งฟันเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนทดลองและส่วนควบคุม (รูปที่ 2-ง)
3. กำหนดพื้นที่ส่วนทดลองคือบริเวณที่จะทาสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นหน้าต่างขนาด 1x1 ตารางมิลลิเมตร และใช้เข็มกรอกากเพชรเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร กรอเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 1 ซึ่งจะใช้เป็นจุดอ้างอิงในการวัดความหนาแน่นแร่ธาตุด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร (รูปที่ 2-ง)
4. เป่าชิ้นฟันตัวอย่างให้แห้งด้วยที่เป่าลมและน้ำ ทาเคลือบชิ้นฟันตัวอย่างด้วยน้ำยาทาเล็บให้ทั่วยกเว้นพื้นที่ทดลอง ปล่อยชิ้นฟันให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง
5. ทำรอยบากด้านข้างแท่นยึดด้วยหัวกรอกากเพชรเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 2 (รูปที่ 2-จ)
6. นำชิ้นฟันตัวอย่างที่แห้งดีแล้วมายึดกับแท่นยึดด้วยขี้ผึ้ง โดยวางให้ฐานสี่เหลี่ยมของชิ้นฟันตัวอย่างขนานพื้น นำมาวัดปริมาณความหนาแน่นแร่ธาตุเริ่มต้นด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร และคำนวณรอยผุเริ่มต้น ตามวิธีการคำนวณในหัวข้อ **การวัดผลการทดลอง** (รูปที่ 2-จ)
7. นำชิ้นฟันที่ยึดกับแท่นยึดและถาดหลุมสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยแก๊สฟอร์มัลดีไฮด์ และตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงเพื่อให้แก๊สระเหย

ก.ฟันกรามน้ำนมที่มีรอยผุลึกถึงชั้นเนื้อฟัน

ข.ตัดฟันด้านบดเคี้ยวห่างจากยอดปุ่มฟัน 1.5 มิลลิเมตร

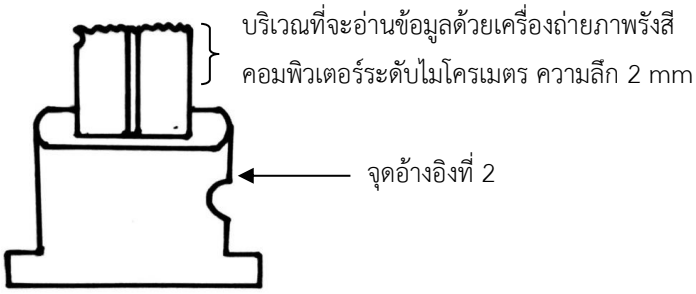


ค.ลักษณะรอยผุชั้นเนื้อฟันเมื่อมองจากด้านบดเคี้ยว



ง. ชิ้นฟันตัวอย่าง ทาน้ำยาทาเล็บยกเว้นบริเวณทดลอง 1X1 ตารางมิลลิเมตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จ. ชิ้นฟันตัวอย่างที่ยึดบนแท่นยึดเรซิ่น ทำรอยบากด้านข้างแท่นยึดเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 2

รูปที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง

การทาสารที่ทำให้เกิดการคืนกลับแร่ธาตุ

ภายหลังทำชิ้นฟันตัวอย่างให้ปราศจากเชื้อแล้วแบ่งชิ้นฟันออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ชิ้น โดยนำชิ้นฟันตัวอย่างที่วัดความหนาแน่นแร่ธาตุก่อนการทดลองและคำนวณความลึกรอยผุแล้ว มาเรียงลำดับความลึกรอยผุจากน้อยไปมากและแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ชิ้นตามช่วงชั้นความลึกรอยผุ จากนั้นนำชิ้นฟันตัวอย่างในแต่ละกลุ่มมาเรียงลำดับความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยจากน้อยไปมากและแบ่งเป็นกลุ่มย่อยกลุ่มละ 3 ชิ้น การวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลาย 3 ชนิด กำหนดให้เป็นสารละลาย A, B และ C สุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่มย่อยโดยการจับฉลาก

แช่ชิ้นฟันตัวอย่างในน้ำลายเทียมปราศจากเชื้อเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำชิ้นฟันมาทาสารดังนี้

กลุ่มที่ 1 (กลุ่มที่ได้รับการทาสารชนิด A) ทารอยผุด้วยสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ร้อยละ 38 (Saforide® : Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan)

1. หยดสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Saforide®: Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan) ในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. ดูดสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตรด้วยปิเปตอัตโนมัติ นำมาหยดในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ จากนั้นใช้พู่กันขนาดเล็กจุ่มสารละลายและนำมาถูบริเวณรอยผุเป็นเวลา 3 นาที
3. ล้างสารละลายส่วนเกินออกด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร

กลุ่มที่ 2 (กลุ่มที่ได้รับการทาสารชนิด B) ทารอยผุด้วยสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ร้อยละ 38 (Advantage Arrest™ : Elevate Oral Care)

1. หยดสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Advantage Arrest™: Elevate Oral Care) ในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. ดูดสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตรด้วยปิเปตอัตโนมัติ นำมาหยดในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ จากนั้นใช้พู่กันขนาดเล็กจุ่มสารละลายและนำมาถูบริเวณรอยผุเป็นเวลา 3 นาที
3. ล้างสารละลายส่วนเกินออกด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กลุ่มที่ 3 (กลุ่มที่ได้รับการทาสารชนิด C) กลุ่มควบคุม ทารอยผุด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อ

1. หยดน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. ดูดน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 ไมโครลิตรด้วยปิเปตอัตโนมัติ นำมาหยดในหลุมพลาสติกปราศจากเชื้อ จากนั้นใช้พู่กันขนาดเล็กจุ่มสารละลายและนำมาถูบริเวณรอยผุเป็นเวลา 3 นาที
3. ล้างสารละลายส่วนเกินออกด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการจำลองสภาวะในช่องปาก

1. เตรียมสารละลายเพื่อทำให้เกิดกรดโดยเชื้อแบคทีเรีย (รูปที่ 3)

ดัดแปลงจากการศึกษาของ Fontana และคณะในปี 1996(57) และการศึกษาของ Klein และคณะในปี 1999(52) เตรียมโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดได้แก่ เชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*) สายพันธุ์ ATCC25175 และเชื้อ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ* (*Lactobacillus casei*) สายพันธุ์ IFO3533

1.1 นำเชื้อทั้งสองชนิดจากตู้เก็บรักษาเชื้ออุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาแยกเพาะในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดทริปติกซอย (Tryptic soy agar) เลี้ยงในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

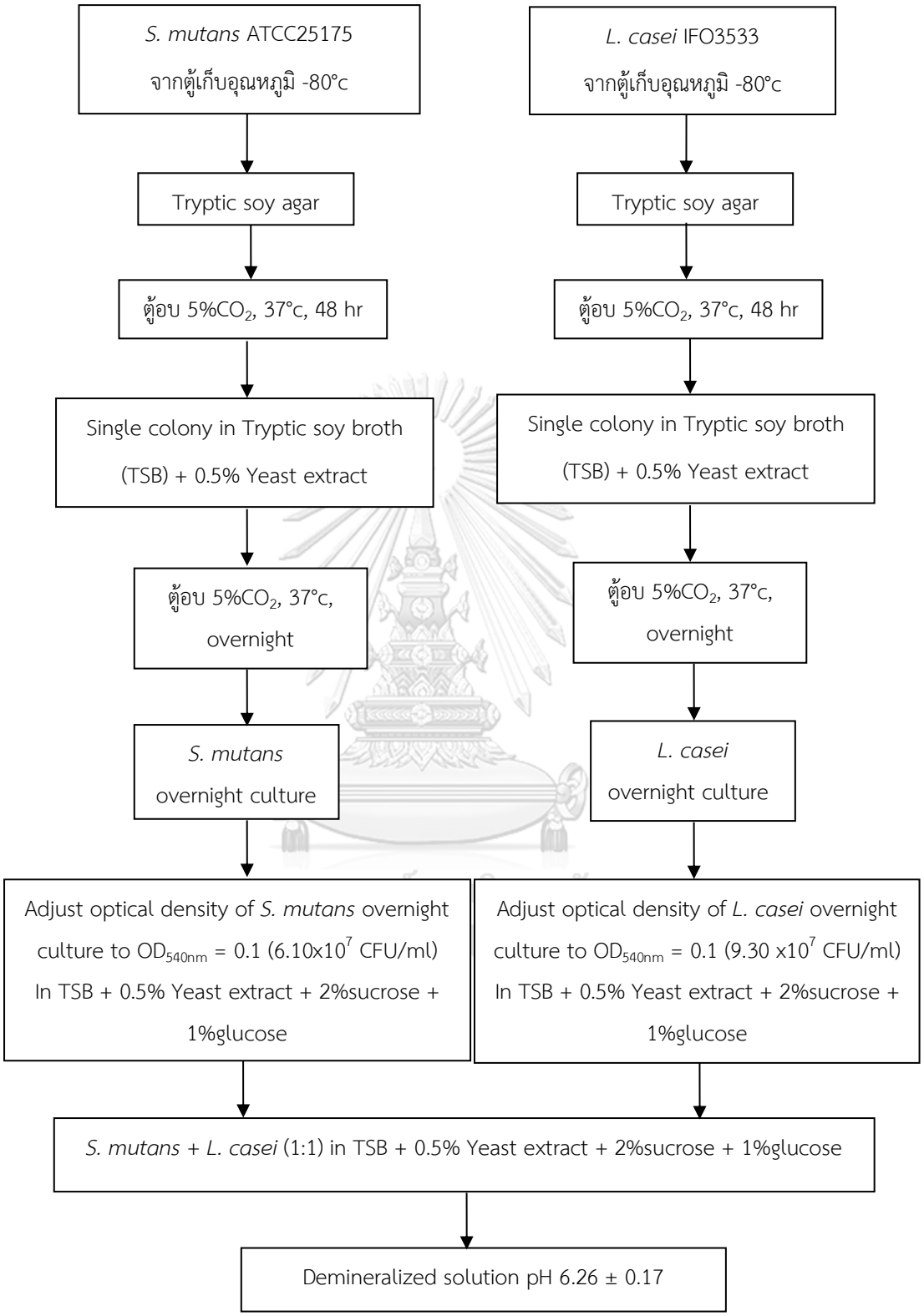
1.2 นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อทั้งสองชนิดมาแยกใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวชนิดทริปติกซอย (Tryptic soy broth) ที่มีสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ร้อยละ 5 เลี้ยงในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

1.3 นำเชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* และเชื้อ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ* จากข้อ 1.2 มาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวชนิดทริปติกซอยที่มีสารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 0.5, ซูโครสร้อยละ 2 และกลูโคสร้อยละ 1 เพื่อปรับความทึบแสงของสารละลายที่มีเชื้อแต่ละชนิด (Optical density: OD) ให้เท่ากับ 0.1 วัดความทึบแสงด้วยเครื่องเสปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

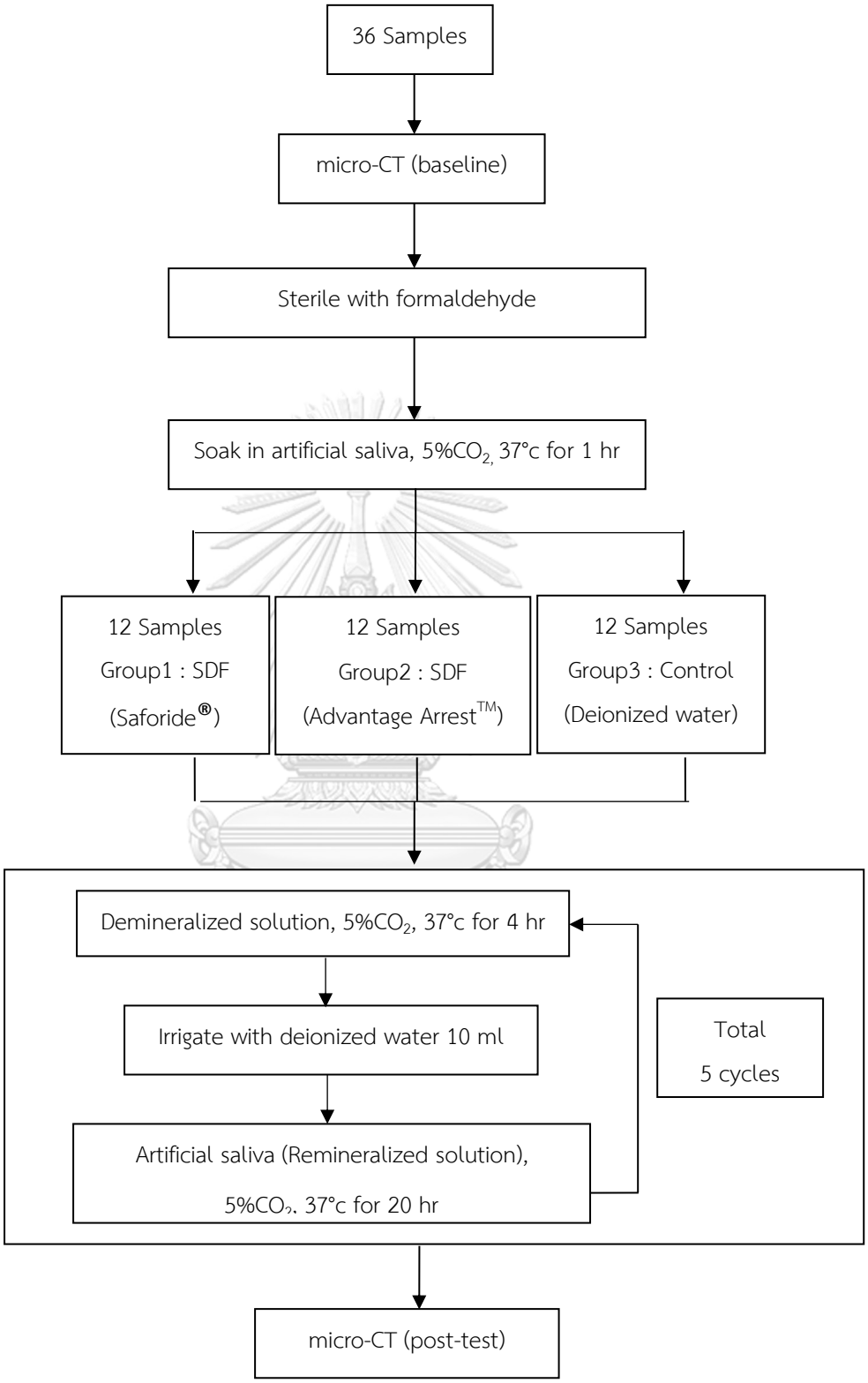
1.4 นำเชื้อทั้งสองชนิดจากข้อ 1.3 มาผสมกันในสัดส่วน 1:1 จะได้สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.26 ± 0.17 โดยมีปริมาณเชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* เริ่มต้นคือ 6.10×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตรและเชื้อ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ* เริ่มต้นคือ 9.30×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2. นำชิ้นฟันตัวอย่างที่ทาสารทั้ง 3 กลุ่ม มาแช่ในสารที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อ 1 ชิ้นฟันตัวอย่างเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบ 4 ชั่วโมง นำมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นแช่ชิ้นฟันตัวอย่างในน้ำลายเทียมชนิดไม่มีฟลูออไรด์ปราศจากเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อ 1 ชิ้นฟันตัวอย่างเป็นเวลา 20 ชั่วโมงแล้วนำมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แช่สลับเป็นจำนวน 5 รอบ (รูปที่ 4)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 3 แผนผังการเตรียมสารละลายที่ทำให้เกิดกรดโดยเชื้อแบคทีเรีย

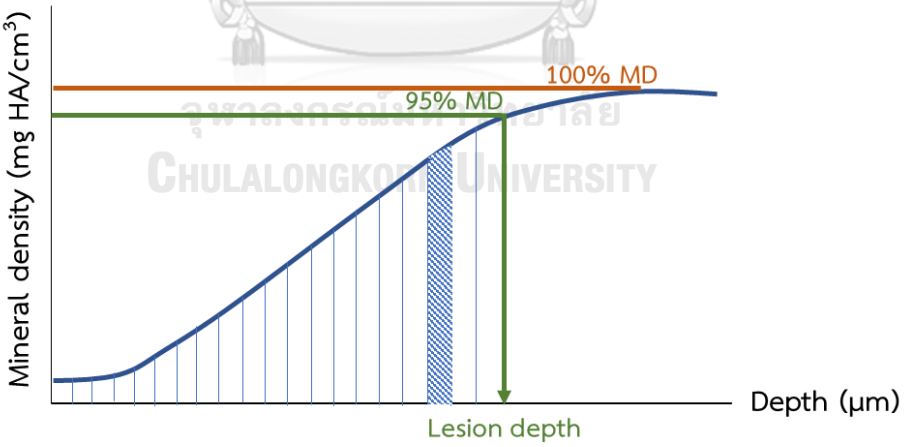


รูปที่ 4 ขั้นตอนการจำลองสภาวะในช่องปาก

การวัดผลการทดลอง

วัดความหนาแน่นแร่ธาตุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังการทดลองด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร ตั้งค่าความหนาแน่นแร่ธาตุของเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตรเทียบกับไฮดรอกซีอะพาไทต์บริสุทธิ์ 1,200 มิลลิกรัมไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความละเอียดของภาพ 1,024x1,024 พิกเซล ใช้รังสี 70 kVp 114 μA การหมุน 180 องศา การถ่าย 1 ครั้งใช้เวลา 10 นาทีต่อ 1 ชิ้นฟันตัวอย่าง จำนวน 200 สไลด์ ความหนา 10 ไมโครเมตรต่อสไลด์

ในการถ่ายภาพรังสีด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร จะวางแท่นยึดฟันในแท่นพลาสติกทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร ติดเทปกาวระหว่างฐานของแท่นยึดฟันกับแท่นพลาสติกทรงกระบอก เพื่อให้แท่นยึดอยู่กับที่ในแท่นพลาสติกทรงกระบอกขณะทำการถ่ายภาพรังสี จากนั้นอ่านค่าความหนาแน่นแร่ธาตุชิ้นฟันตัวอย่างจากด้านบนสุดของผิวชิ้นฟันด้านทดลองลงมา 2 มิลลิเมตร แล้วนำค่าที่ได้ในแต่ละสไลด์มาสร้างกราฟโดยให้แกนนอนเป็นความลึกและแกนตั้งเป็นความหนาแน่นแร่ธาตุ พื้นที่ใต้กราฟในแต่ละช่วงความลึกของรอยโรคจะมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมด้านขนาน (รูปที่ 6) จากนั้นคำนวณหาระดับความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุ โดยดัดแปลงวิธีการคำนวณจาก Arends และคณะ ในปี 1992(58) และ Liu และคณะ ในปี 2013(59)



รูปที่ 5 กราฟแสดงระดับความลึกและความหนาแน่นแร่ธาตุในแต่ละช่วงความลึกของรอยโรค

ระดับความลึกของรอยผุชั้นเนื้อฟัน คำนวณหาระดับความลึกของรอยผุชั้นเนื้อฟัน โดยกำหนดให้ระดับความลึกของรอยผุชั้นเนื้อฟัน คือ ระยะทางของรอยผุชั้นบนสุดจนถึงระดับที่เนื้อฟันมีความหนาแน่นแร่ธาตุร้อยละ 95 ของความหนาแน่นแร่ธาตุเนื้อฟันปกติ (รูปที่ 5)

ความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุ คำนวณจากผลรวมพื้นที่สี่เหลี่ยมด้านขนานใต้กราฟระหว่างความลึก (แกนนอน) และความหนาแน่นแร่ธาตุ (แกนตั้ง) ตั้งแต่รอยผุชั้นบนสุดถึงระดับความลึกรอยผุชั้นเนื้อฟัน (รูปที่ 5)

พื้นที่สี่เหลี่ยมด้านขนาน ในแต่ละช่วงความลึกของรอยผุ คำนวณโดยใช้สูตร

พื้นที่สี่เหลี่ยมด้านขนาน = ½ x (ผลบวกด้านคู่ขนาน) x ความสูง

โดย

½ x (ผลบวกด้านคู่ขนาน) คือ ค่าความหนาแน่นแร่ธาตุที่อ่านได้จากเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตรในแต่ละชั้น

ความสูง คือ ระดับความหนาของรอยโรคแต่ละชั้น

ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยในรอยผุ คำนวณจาก

$$\frac{\text{ความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุ}}{\text{ระดับความลึกรอยผุชั้นเนื้อฟัน}}$$

ร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ ในรอยโรคฟันผุก่อนและหลังการทดลอง คำนวณจากสูตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

$$\frac{\text{(พื้นที่ใต้กราฟหลังการทดลอง - พื้นที่ใต้กราฟก่อนการทดลอง)}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟก่อนการทดลอง}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมเอสพีเอสเอส เวอร์ชัน 22 ในการประมวลผลข้อมูลดังนี้

1. ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความลึกรอยผุ ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มก่อนและหลังการทดลอง และร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุในแต่ละกลุ่ม

2. ทดสอบการกระจายของข้อมูลในแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ Shapiro-Wilk test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05
3. เนื่องจากความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันก่อนการทดลองในแต่ละกลุ่มมีการกระจายของข้อมูลแบบปกติ จึงวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันก่อนการทดลองระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ one-way ANOVA โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05
4. เนื่องจากความลึกรอยผุของชิ้นฟันก่อนและหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มมีการกระจายของข้อมูลแบบปกติ จึงวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความลึกรอยผุของชิ้นฟันก่อนและหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ Paired T-test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05
5. เนื่องจากความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันก่อนและหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มมีการกระจายแบบไม่ปกติ จึงวิเคราะห์เปรียบเทียบความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันก่อนและหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05
6. เนื่องจากร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มมีการกระจายแบบปกติ จึงวิเคราะห์เปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลองระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ one-way ANOVA เมื่อทดสอบความเป็นเอกพันธ์ของความแปรปรวน (Homogeneity of variances) ด้วยสถิติ Levene's test พบว่าความแปรปรวนในแต่ละกลุ่มไม่เท่ากันจึงทดสอบความแตกต่างในแต่ละคู่ด้วยสถิติ Games-Howell Post Hoc test โดยการทดสอบทางสถิติทั้งหมดกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการดำเนินการวิจัย

ผลการศึกษา

ชิ้นฟันตัวอย่างที่มีรอยผุตามธรรมชาติในชั้นเนื้อฟันจำนวน 36 ชิ้น แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ร้อยละ 38 (Saforide®: Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan) กลุ่มที่ 2 ทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ร้อยละ 38 (Advantage Arrest™: Elevate Oral Care) และกลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุม ทาด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อ

จากการเปรียบเทียบความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองระหว่างกลุ่ม พบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีความลึกรอยผุและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน (p= 0.777 และ 0.978 ตามลำดับ) (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 ระดับความลึกรอยผุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังการทดลอง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

Groups	Lesion depth (μm)	
	Baseline	Post-test
Saforide®	1086.31 ± 457.56 [a]	1003.96 ± 468.90 [b]
Advantage Arrest™	973.64 ± 398.16 [a]	801.31 ± 303.81 [b]
Control	1052.46 ± 325.83 [a]	1021.18 ± 347.53 [a]

Differences in superscript letters in row indicate statistically significant difference between baseline and post-test within group (p< 0.05).

จากตารางที่ 2 พบว่า ในชิ้นฟันตัวอย่างที่ได้รับการทา Saforide® และ Advantage Arrest™ มีความลึกรอยผุหลังการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p= 0.033 และ0.021 ตามลำดับ) ส่วนกลุ่มควบคุม มีความลึกรอยผุก่อนและหลังการทดลองไม่แตกต่างกัน (p= 0.342)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3 ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนการทดลอง หลังการทดลองและร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

Groups	Mean mineral density (mg HA/cm^3)		%MD change
	Baseline	Post-test	
Saforide®	639.73±143.47[a]	964.57±136.78[b]	55.82±29.98
Advantage Arrest™	652.04±122.00[a]	980.45±90.63[b]	53.74±22.52
Control	647.37±166.60[a]	668.44±149.98[a]	4.15±7.05*

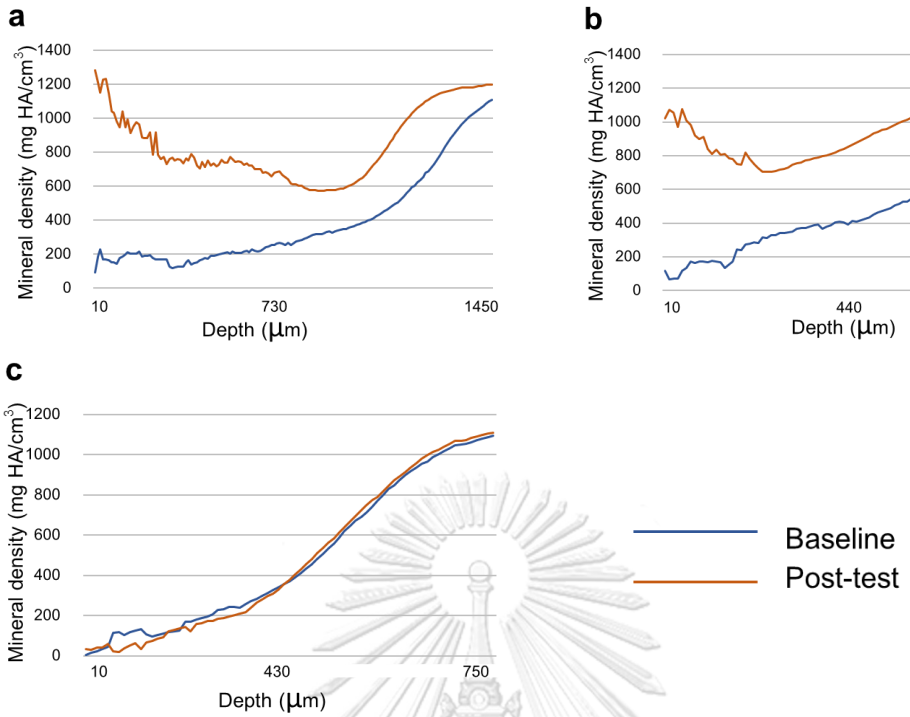
Differences in superscript letters in row indicate statistically significant difference between baseline and post-test within group ($p< 0.05$).

* Statistically significant difference of %MD change among groups ($p< 0.05$).

จากตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่มพบว่า กลุ่มที่ได้รับการทา Saforide® และ Advantage Arrest™ มีความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p= 0.002$ และ 0.002 ตามลำดับ) ส่วนกลุ่มควบคุมมีความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p= 0.182$)

เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุระหว่างกลุ่มพบว่ากลุ่มที่ได้รับการทา Saforide® และ Advantage Arrest™ มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.001$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 6 ตัวอย่างกราฟแสดงลักษณะความหนาแน่นแร่ธาตุที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่ม (a) Saforide®, (b) Advantage Arrest™ และ (c) Control

เมื่อพิจารณาความหนาแน่นแร่ธาตุในรอยผุที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ทั้ง 2 กลุ่มมีความหนาแน่นแร่ธาตุเพิ่มขึ้นอย่างมากในบริเวณชั้นนอกของรอยผุ ส่วนในกลุ่มควบคุมพบว่าความหนาแน่นแร่ธาตุก่อนและหลังการทดลองที่ระดับความลึกต่าง ๆ มีลักษณะใกล้เคียงกัน (รูปที่ 6 a-c)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน โดยใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ที่ผลิตในประเทศญี่ปุ่นคือ Saforide® เป็นสารละลายมาตรฐาน เนื่องจากมีการศึกษาพบว่ามีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งรอยผุชั้นเนื้อฟันในฟันน้ำนม(7-9) ส่วน Advantage Arrest™ เป็นซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา(40) และในการทาสารละลายบนรอยผุนั้น จะใช้พู่กันขนาดเล็กทาโดยถูเบา ๆ (rubbing) บนรอยผุเป็นเวลา 3 นาที ตามคำแนะนำของ Yamaga และคณะ(39)

ในการทดลองนี้ ใช้ชิ้นฟันตัวอย่างจากฟันกรามน้ำนมในบริเวณที่มีรอยผุชั้นเนื้อฟันลึกระยะชั้นนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาชั้นเนื้อฟันและไม่กำจัดรอยผุออก เนื่องจากการศึกษาของ Lo และคณะในปี 2001 พบว่าการกำจัดรอยผุออกก่อนหรือไม่ ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการหยุดยั้งรอยผุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์(8)

ในการศึกษาที่ผ่านมา การทำให้ชิ้นฟันตัวอย่างปราศจากเชื้อจะใช้แก๊สเอทิลีนออกไซด์(50) แต่ด้วยข้อจำกัดเรื่องอุปกรณ์ ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำให้ชิ้นฟันตัวอย่างปราศจากเชื้อโดยใช้แก๊สฟอมัลดีไฮด์

ชิ้นฟันตัวอย่างทั้งหมดจะผ่านสภาวะช่องปากจำลองโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย ซึ่งการใช้สภาวะช่องปากจำลองทำให้สามารถควบคุมปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ได้ แต่อย่างไรก็ตามการจำลองสภาวะช่องปากโดยใช้เชื้อแบคทีเรียยังคงมีข้อจำกัดเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่พบในช่องปากนั้นมีมากกว่า 700 สายพันธุ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถทำการจำลองสภาวะช่องปากให้เหมือนสภาวะจริงได้ทั้งหมด(50) การศึกษาในครั้งนี้เลือกใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์คือ *สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* (*Streptococcus mutans*) และ*แลคโตบาซิลลัส เคซิไอ* (*Lactobacillus casei*) ซึ่งเป็นเชื้อที่พบในรอยผุชั้นเนื้อฟัน (18) และในการเตรียมสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุโดยใช้เชื้อแบคทีเรียสำหรับการศึกษาครั้งนี้ เตรียมสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.26 ± 0.17 ซึ่งต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างวิกฤติของเนื้อฟันคือ 6.7(28)

ในการจำลองสภาวะช่องปาก ได้ดัดแปลงจากการศึกษาของ Totiam และคณะในปี 2007 (60) เป็นการจำลองสภาวะช่องปากโดยแช่ชิ้นฟันตัวอย่างในสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ ซึ่งเตรียมจากเชื้อ*สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์* โดยแช่ครั้งละ 1 ชั่วโมงสลับกับการแช่สารละลายที่ไม่มี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ฟลูออไรด์ 5 ชั่วโมง วันละ 4 รอบ ตลอดกระบวนการจำลองสภาวะช่องปากชิ้นฟันตัวอย่างจะถูกเก็บในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5(60) แต่เนื่องด้วยข้อจำกัดในเรื่องเวลาการศึกษาในครั้งนี้จึงแช่ชิ้นฟันตัวอย่างในสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุเป็นเวลาต่อเนื่อง 4 ชั่วโมงสลับกับการแช่น้ำลายเทียมที่ไม่มีฟลูออไรด์เป็นเวลา 20 ชั่วโมง รวมทั้งการแช่ชิ้นฟันตัวอย่างในสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุเป็นระยะเวลานาน ยังเป็นการจำลองพฤติกรรมการดื่มนมถี่ ๆ จากขวดและหลับคาขวดในเด็กปฐมวัยอีกด้วย

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ความหนาแน่นแร่ธาตุและความลึกรอยผุเป็นตัวแปรในการศึกษาการคืนกลับแร่ธาตุของรอยผุ เนื่องจากความหนาแน่นแร่ธาตุเป็นตัวแปรที่ใช้เป็นมาตรฐานในการวัดการสูญเสียหรือคืนกลับแร่ธาตุในรอยโรคฟันผุ(61) การศึกษาความหนาแน่นแร่ธาตุในรอยผุสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การวัดความแข็งผิวของรอยผุ การวัดค่าดัชนีหักเหในรอยผุ (birefringing measurement) การใช้สารเคมี รวมถึงการถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร (micro-CT) (62) การวัดความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุโดยใช้เครื่อง micro-CT นั้นเป็นวิธีการที่สามารถสร้างภาพสามมิติและวัดซ้ำได้หลายครั้งโดยไม่ต้องทำลายชิ้นงาน สามารถใช้วัดความหนาแน่นแร่ธาตุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังผ่านสภาวะช่องปากจำลองได้(61) จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

ส่วนความลึกรอยผุนั้นเป็นอีกตัวแปรหนึ่งที่บ่งชี้ถึงการสูญเสียหรือคืนกลับแร่ธาตุ ในการศึกษานี้กำหนดให้ความลึกรอยผุคือระดับที่เนื้อฟันมีความหนาแน่นแร่ธาตุร้อยละ 95 ของความหนาแน่นแร่ธาตุเนื้อฟันปกติ โดยดัดแปลงจากการศึกษาของ Arends และคณะในปี 1987 ที่ศึกษาการสูญเสียแร่ธาตุในชั้นเคลือบฟัน การศึกษาดังกล่าวได้อธิบายถึงความลึกรอยผุว่า เป็นระยะจากผิวนอกของรอยผุถึงระยะที่รอยผุมีความหนาแน่นแร่ธาตุน้อยกว่าความหนาแน่นแร่ธาตุของคลือบฟันปกติอยู่ร้อยละ 5 โดยการกำหนดความลึกรอยผุที่ระยะนี้เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจวัดความหนาแน่นแร่ธาตุเข้าไปถึงระดับเคลือบฟันปกติ เนื่องจากการพิจารณาความลึกรอยผุนั้น จะพิจารณาเฉพาะส่วนรอยโรคฟันผุโดยไม่รวมส่วนที่เป็นเคลือบฟันปกติ(62) การศึกษานี้จึงคำนวณความลึกรอยผุจากผิวนอกของรอยผุจนถึงระดับที่รอยผุมีความหนาแน่นแร่ธาตุร้อยละ 95 ของความหนาแน่นแร่ธาตุเนื้อฟันปกติ

จากผลการศึกษาพบว่าชิ้นฟันตัวอย่างในกลุ่มทดลองซึ่งได้รับการทา Saforide® และ Advantage Arrest™ มีความลึกรอยผุหลังการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อศึกษาลักษณะการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุอย่างรวดเร็วในบริเวณชั้นนอกของรอยผุ(รูปที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mei และคณะในปี 2014 ที่พบว่าเมื่อนำฟันน้ำนมที่มีรอยผุชั้นเนื้อฟันซึ่งได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 และมี

การหยุดยั้งของรอยผุแล้วมาตรวจด้วยเครื่อง micro-CT จะพบแถบทึบรังสีลึก 150 ไมครอนจากผิวนอกของรอยผุ รวมทั้งพบแคลเซียมและฟอสเฟตในบริเวณนี้มากกว่าบริเวณด้านในของรอยผุและมากกว่ากลุ่มควบคุม(49) การเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุในรอยผุภายหลังการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สามารถอธิบายคือ เมื่อซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สัมผัสกับรอยผุชั้นเนื้อฟันจะทำปฏิกิริยากับเนื้อฟันได้ผลิตภัณฑ์คือ แคลเซียมฟลูออไรด์ ซิลเวอร์ฟอสเฟตและซิลเวอร์โปรตีน ซึ่งไม่ละลายน้ำและตกตะกอนปกคลุมบนชั้นนอกของเนื้อฟัน เป็นการลดการสูญเสียแคลเซียมและฟอสเฟตออกจากรอยผุ รวมทั้งเป็นการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อฟันที่พอกพูนด้วยแคลเซียมหรือเนื้อฟันแข็งกระด้าง (calcified or sclerotic dentine)(36) การที่รอยผุชั้นนอกมีแร่ธาตุเพิ่มขึ้นนี้ยังสัมพันธ์กับการมีความแข็งผิวของรอยผุที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย(50)

การคืนกลับแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันจะเกิดขึ้นได้ต้องอาศัยสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ได้แก่ การมีโครงข่ายคอลลาเจนเพื่อเป็นที่ยึดเกาะของผลึกแร่ธาตุ การที่ชั้นเนื้อฟันยังคงมีผลึกแร่ธาตุหลงเหลืออยู่เพื่อเป็นจุดศูนย์กลางในการเพิ่มของแร่ธาตุ รวมถึงมีแหล่งของแร่ธาตุซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมและฟอสเฟต(35)

มีการศึกษาเพื่อหาสารต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้คืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 0.2 สามารถยับยั้งการทำงานของเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (metrix metalloproteinases: MMPs) ได้ โดยพบค่าความยืดหยุ่น (elastic modulus) สูงกว่ากลุ่มควบคุมและพบการตกตะกอนแร่ธาตุรอบ ๆ เส้นใยคอลลาเจน(35) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการคืนแร่ธาตุของคลอเฮกซิดีนยังด้อยกว่าการใช้ฟลูออไรด์ รวมทั้งยังไม่มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุของคลอเฮกซิดีนอย่างเพียงพอ นอกจากนั้นยังมีการศึกษาถึงการใช้ Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CCP-ACP) เพื่อเป็นแหล่งแคลเซียมและฟอสเฟตเพิ่มเติม ในสภาวะปกติน้ำลายจะเป็นแหล่งกักเก็บแคลเซียมและฟอสเฟตปฐมภูมิ พบว่าในกรณีที่มีการหลั่งของน้ำลายเป็นปกติ แคลเซียมและฟอสเฟตในน้ำลายก็เพียงพอในการคืนกลับแร่ธาตุ และไม่จำเป็นต้องได้รับจากแหล่งอื่นเพิ่มเติม(63)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ MMPs และ cathepsin ทำให้ยังคงโครงข่ายคอลลาเจนในเนื้อฟัน เมื่อสารละลายทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีอะพาไทต์ ได้ผลิตภัณฑ์คือซิลเวอร์ฟอสเฟตและแคลเซียมฟลูออไรด์ แคลซียมฟลูออไรด์จะควบคุมความเป็นกรด-ด่างและปล่อยฟลูออไรด์อย่างช้า ๆ เมื่อฟันอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรด(34) ฟลูออไรด์ยังสามารถยับยั้งการสร้างเอนไซม์อิโนเลส (enolase) ที่เชื้อแบคทีเรียใช้ในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาล ส่วนซิลเวอร์จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (glucosyltransferase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ย่อยน้ำตาลซูโครสและสร้างกลูแคน (glucan) เพื่อใช้ในการยึดเกาะของเชื้อกับผิว

ฟัน เมื่อเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถผลิตสารตั้งต้นที่ใช้ในการยึดเกาะผิวฟันได้ จึงไม่สามารถสร้างแผ่นชีวภาพขึ้นบนผิวฟัน(50)

จากคุณสมบัติของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่สามารถลดการสูญเสียแร่ธาตุ เพิ่มความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุ สามารถยับยั้งการทำลายโครงข่ายคอลลาเจนในเนื้อฟัน สามารถยับยั้งการสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรียบนผิวฟันและมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จึงทำให้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นสารที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้หยุดยั้งรอยผุและคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน

อย่างไรก็ตาม การศึกษาในครั้งนี้ ไม่สามารถจำลองสภาวะช่องปากให้เหมือนสภาวะจริงได้ทั้งหมด เช่น ความถี่ในการรับประทานอาหาร ชนิดของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก จึงไม่สามารถนำผลที่ได้ไปใช้ในทางคลินิกได้ทั้งหมดและต้องมีการศึกษาในทางคลินิกต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การวิจัยในห้องปฏิบัติการครั้งนี้สรุปได้ว่า สารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดคือ Saforide® (Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan) และ Advantage Arrest™ (Elevate Oral Care, USA) มีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนมไม่แตกต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

1. สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 8 พ.ศ.2560. กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย. 2561.

2. สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 7 พ.ศ.2555. กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย. 2556.

3. Acs G, Shulman R, Ng MW, Chussid S. The effect of dental rehabilitation on the body weight of children with early childhood caries. Pediatr Dent. 1999;21(2):109-13.

4. Murdoch-Kinch CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. J Am Dent Assoc. 2003;134(1):87-95.

5. Crystal Y, Marghalani A, Ureles SD. Use of silver diamine fluoride fordental caries management in children and adolescents, including those with special health care needs. . Pediatr Dent. 2017;39(5):E135-E45.

6. Duangthip D, Chu CH, Lo EC. A randomized clinical trial on arresting dentine caries in preschool children by topical fluorides--18 month results. J Dent. 2016;44:57-63.

7. Chu CH, Lo EC, Lin HC. Effectiveness of silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish in arresting dentin caries in Chinese pre-school children. J Dent Res. 2002;81(11):767-70.

8. Lo EC, Chu CH, Lin HC. A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. J Dent Res. 2001;80(12):2071-4.

9. Fung MHT, Duangthip D, Wong MCM, Lo ECM, Chu CH. Arresting Dentine Caries with Different Concentration and Periodicity of Silver Diamine Fluoride. JDR Clinical & Translational Research. 2016;1(2):143-52.

10. Kassebaum NJ, Bernabe E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. J Dent Res. 2015;94(5):650-8.

11. Zero DT, Fontana M, Martinez-Mier EA, Ferreira-Zandona A, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, et al. The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries:

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

scientific advances in the United States. J Am Dent Assoc. 2009;140 Suppl 1:25S-34S.

12. van Houte J, Lopman J, Kent R. The final pH of bacteria comprising the predominant flora on sound and carious human root and enamel surfaces. J Dent Res. 1996;75(4):1008-14.

13. Barron RP, Carmichael RP, Marcon MA, Sandor GK. Dental erosion in gastroesophageal reflux disease. J Can Dent Assoc. 2003;69(2):84-9.

14. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res. 2004;38(3):182-91.

15. Takahashi N, Nyvad B. Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. Caries Res. 2016;50(4):422-31.

16. Mei ML, Li QL, Chu CH, Yiu CK, Lo EC. The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. Dent Mater. 2012;28(8):903-8.

17. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. J Clin Microbiol. 2008;46(4):1407-17.

18. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. J Clin Microbiol. 2002;40(3):1001-9.

19. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Microbiology of dental caries. 2013. 2013;3(1):4.

20. Smith SI, Aweh AJ, Coker AO, Savage KO, Abosede DA, Oyedeji KS. Lactobacilli in human dental caries and saliva. Microbios. 2001;105(411):77-85.

21. Bonecker M, Grossman E, Cleaton-Jones PE, Parak R. Clinical, histological and microbiological study of hand-excavated carious dentine in extracted permanent teeth. SADJ. 2003;58(7):273-8.

22. Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Lo EC. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with S. mutans and L. acidophilus dual-species cariogenic biofilm. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2013;18(6):e824-31.

23. Caufield PW, Schon CN, Saraithong P, Li Y, Argimon S. Oral Lactobacilli and

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Dental Caries: A Model for Niche Adaptation in Humans. J Dent Res. 2015;94(9 Suppl):110S-8S.

24. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. Caries Res. 2009;43(1):70-7.

25. Lou YL, Botelho MG, Darvell BW. Reaction of silver diamine [corrected] fluoride with hydroxyapatite and protein. J Dent. 2011;39(9):612-8.

26. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. J Dent. 2008;36(6):387-91.

27. Femiano F, Femiano R, Femiano L, Jamilian A, Rullo R, Perillo L. Dentin caries progression and the role of metalloproteinases: an update. Eur J Paediatr Dent. 2016;17(3):243-7.

28. Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM. The mineral solubility of human tooth roots. Arch Oral Biol. 1987;32(5):319-22.

29. Pugach MK, Strother J, Darling CL, Fried D, Gansky SA, Marshall SJ, et al. Dentin caries zones: mineral, structure, and properties. J Dent Res. 2009;88(1):71-6.

30. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. J Dent Res. 2003;82(12):957-61.

31. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. J Dent Res. 2010;89(11):1187-97.

32. Daculsi G, Kerebel B, Le Cabellec MT, Kerebel LM. Qualitative and quantitative data on arrested caries in dentine. Caries Res. 1979;13(4):190-202.

33. Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. Caries Res. 1991;25(1):39-45.

34. Mei ML, Ito L, Cao Y, Li QL, Lo EC, Chu CH. Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. J Dent. 2013;41(9):809-17.

35. Kim DS, Kim J, Choi KK, Kim SY. The influence of chlorhexidine on the remineralization of demineralized dentine. J Dent. 2011;39(12):855-62.

36. Zhi QH, Lo EC, Kwok AC. An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. Aust Dent J. 2013;58(1):50-6.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

37. Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. Community Dent Oral Epidemiol. 1999;27(1):31-40.

38. Stoodley P, Wefel J, Gieseke A, Debeer D, von Ohle C. Biofilm plaque and hydrodynamic effects on mass transfer, fluoride delivery and caries. J Am Dent Assoc. 2008;139(9):1182-90.

39. Yamaka R, Nishino M, Yoshida S, Yokomizo I. Diammine Silver Fluoride and its Clinical Application The Journal of Osaka University Dental School. 1972;12:1-20.

40. Horst JA, Ellenikiotis H, Milgrom PL. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. J Calif Dent Assoc. 2016;44(1):16-28.

41. Mei ML, Nudelman F, Marzec B, Walker JM, Lo ECM, Walls AW, et al. Formation of Fluorohydroxyapatite with Silver Diamine Fluoride. J Dent Res. 2017:22034517709738.

42. Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, Burrow MF, Duangthip D, Mei ML, et al. Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. Int Dent J. 2017.

43. Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. Oral Health Prev Dent. 2008;6(4):315-21.

44. Mei ML, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Fluoride and silver concentrations of silver diammine fluoride solutions for dental use. Int J Paediatr Dent. 2013;23(4):279-85.

45. Vasquez E, Zegarra G, Chirinos E, Castillo JL, Taves DR, Watson GE, et al. Short term serum pharmacokinetics of diammine silver fluoride after oral application. BMC Oral Health. 2012;12:60.

46. Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". J Dent Res. 2009;88(2):116-25.

47. Dos Santos VE, Jr., de Vasconcelos FM, Ribeiro AG, Rosenblatt A. Paradigm shift in the effective treatment of caries in schoolchildren at risk. Int Dent J. 2012;62(1):47-51.

48. Peng JJ, Botelho MG, Matinlinna JP. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. J Dent. 2012;40(7):531-41.

49. Mei ML, Ito L, Cao Y, Lo EC, Li QL, Chu CH. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. J Dent. 2014;42(4):395-402.

50. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013;12:4.

51. Gotjamanos T. Pulp response in primary teeth with deep residual caries treated with silver fluoride and glass ionomer cement ('atraumatic' technique). Aust Dent J. 1996;41(5):328-34.

52. Klein U, Kanellis MJ, Drake D. Effects of four anticaries agents on lesion depth progression in an in vitro caries model. Pediatr Dent. 1999;21(3):176-80.

53. WHO. Silver in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality.2nd ed. Geneva, 1996.

54. Whitford GM. Fluoride in dental products: safety considerations. J Dent Res. 1987;66(5):1056-60.

55. Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, Morato M. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. J Dent Res. 2005;84(8):721-4.

56. Rosner B. Fundamentals of Biostatistics, Fifth Edition: Solutions Manual: Duxbury; 2000.

57. Fontana M, Dunipace AJ, Gregory RL, Noblitt TW, Li Y, Park KK, et al. An in vitro microbial model for studying secondary caries formation. Caries Res. 1996;30(2):112-8.

58. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. J Dent Res. 1992;71 Spec No:924-8.

59. Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Subablative Er:YAG laser effect on enamel demineralization. Caries Res. 2013;47(1):63-8.

60. Totiam P, Gonzalez-Cabezas C, Fontana MR, Zero DT. A new in vitro model to study the relationship of gap size and secondary caries. Caries Res. 2007;41(6):467-73.

61. Zou W, Hunter N, Swain MV. Application of polychromatic microCT for mineral density determination. J Dent Res. 2011;90(1):18-30.

62. Arends J, Dijkman T, Christoffersen J. Average mineral loss in dental enamel during demineralization. Caries Res. 1987;21(3):249-54.

63. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. Dent Clin North Am. 2010;54(3):507-25.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
เอกสารผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

No. 023/2018

Study Protocol and Consent Form Approval

The Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol and patient/participant information sheet dated and/or amended as follows in compliance with the **ICH/GCP**

Study Title	: Efficacy of silver diamine fluoride in remineralization on dentine caries lesions: *in vitro*
Study Code	: HREC-DCU **2018-020**
Study Center	: Chulalongkorn University
Principle Investigator	: Miss Kantaporn Kunpanichakit
Protocol Date	: March 19, 2018
Date of Approval	: April 5, 2018
Date of Expiration	: April 4, 2020

V. Lertchirakarn.

(Associate Professor Dr. Veera Lertchirakarn)
Chairman of Ethics Committee

K. Bhalang

(Assistant Professor Dr. Kanokporn Bhalang)
Associate Dean for Research

*A list of the Ethics Committee members (names and positions) present at the Ethics Committee meeting on the date of approval of this study has been attached (upon requested). This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

Approval is granted subject to the following conditions: (see back of the approval)

ภาคผนวก ข
เอกสารผลการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ

CU-IBC10

Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University
Institutional Biosafety Committee

Certificate of Approval

Approval No. : DENT CU-IBC 006/2018

Project Title : Efficacy of silver diamine fluoride in remineralization on dentine caries lesions: *in vitro*

Principal Investigator (PI) : Professor.Chutima Trairatvorakul, DDS, M.S.

Affiliation of PI : Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Risk Group :

Pathogen ☐ Risk Group 1 ☑ Risk Group 2 ☐ Risk Group 3

Animal toxin ☐ Risk Group 1 ☐ Risk Group 2

Biocontainment Level :

☐ Biosafety Level 1 ☑ Biosafety Level 2 ☐ Biosafety Level 3

This project has been reviewed and approved by DENT CU-IBC in accordance with the levels of risk in pathogens and animal toxins list in the Risk Group of Pathogen and Animal Toxin (2017) published by Department of Medical Sciences (Ministry of Public Health), the Pathogen and Animal Toxin Act (2015) and Biosafety Guidelines for Modern Biotechnology BIOTEC (2016).

The official signing to certify that the information provided on this form is correct. The institution assumes that investigators will take responsibility, and follow the levels of risk in pathogens and animal toxins list in the Risk Group of Pathogen and Animal Toxin (2017) published by Department of Medical Sciences (Ministry of Public Health), the Pathogen and Animal Toxin Act (2015) and Biosafety Guidelines for Modern Biotechnology BIOTEC (2016).

The approval is subjected to assurance given in the levels of risk in pathogens and animal toxins list in the Risk Group of Pathogen and Animal Toxin (2017) published by Department of Medical Sciences (Ministry of Public Health), the Pathogen and Animal Toxin Act (2015) and Biosafety Guidelines for Modern Biotechnology BIOTEC (2016) and may be required for future investigations and reviews.

If there are any changes in information, please notify DENT CU-IBC.

Date of Approval : August 3, 2018

Date of Expiration : May 1, 2019

Signature .....
(Assistant Professor Kanokporn Bhalang, DDS, Ph.D.)
DENT CU-IBC Chair

ภาคผนวก ค
เอกสารสำหรับขอฟันเพื่อใช้ในการทำวิจัย

เรียน หัวหน้าฝ่ายทันตสาธารณสุข โรงพยาบาลเชียงคาน จังหวัดเลย

ข้าพเจ้าจะทำการวิจัยเรื่อง ประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นการดำเนินการที่เกี่ยวข้องกับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการคืนแร่ธาตุรอยผุชั้นเนื้อฟัน

ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้คือ ทันตแพทย์สามารถเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายแล้วในท้องตลาดซึ่งมีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุสูงสุด เพื่อนำไปใช้กับผู้ป่วยโดยเฉพาะในพื้นที่ที่การเข้าถึงบริการทางทันตกรรมยังจำกัด

ทั้งนี้ การวิจัยนี้จะต้องใช้ฟันกรามน้ำนมซี่ที่หนึ่งหรือสองของขากรรไกรบนหรือล่างที่ถอนจากอาสาสมัครตามแผนการรักษาจำนวน 36 ซี่ โดยผู้วิจัยจะไม่เก็บข้อมูลโดยตรงจากอาสาสมัคร และไม่ต้องการเชื่อมโยงถึงข้อมูลต่าง ๆ ของอาสาสมัคร

จึงเรียนมาเพื่อขอใช้ฟันกรามน้ำนมซี่ที่หนึ่งหรือสองของขากรรไกรบนหรือล่างที่ถอนจากอาสาสมัครตามแผนการรักษา ซึ่งอยู่ในการดูแล/ครอบครองของท่าน และข้าพเจ้าจะจัดการกับสิ่งที่ขอใช้ดังกล่าวเมื่อเสร็จสิ้นการวิจัยดังนี้ กำจัดชิ้นฟันตัวอย่างโดยทิ้งในถังขยะติดเชื้อของโรงพยาบาลคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อนำไปจัดการตามระบบมาตรฐานต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขอแสดงความนับถือ

ลงนาม.....	ลงนาม.....
(นางสาวกันตพร คุณพนิชกิจ)	(ศ(พิเศษ).ทพญ. ชุติมา ไตรรัตน์วรกุล)
ผู้วิจัยหลัก	อาจารย์ที่ปรึกษา
หมายเลขโทรศัพท์มือถือ 081-8224854	วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ง

เอกสารยินยอมมอบฟันเพื่อใช้ในการทำวิจัย

การวิจัยเรื่อง ประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ
ผู้วิจัยหลัก ทันตแพทย์หญิงกันตพร คุณพนิชกิจ

ก่อนที่จะลงนามในเอกสารยินยอมนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย รวมถึงประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าขอมอบ

☑ ฟันที่ได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยให้ถอนออกเนื่องจากเหตุผลทางการแพทย์
☐ เนื้อเยื่อที่ได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยให้ตัดออกเนื่องจากเหตุผลทางการแพทย์
☐ ภาพรังสี
☐ ข้อมูล (โปรดระบุ) .....
☐ สิ่งอื่นๆ (โปรดระบุ) .....

จำนวนเท่าที่ผู้วิจัยขอมา ที่อยู่ในความดูแล/ครอบครองของข้าพเจ้า เพื่อนำไปใช้ในการวิจัยดังกล่าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ลงนาม.....ผู้ยินยอม
(.....)
หัวหน้าฝ่ายทันตสาธารณสุข โรงพยาบาลเชียงคาน
วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้
ฝ่ายทันตสาธารณสุข โรงพยาบาลเชียงคาน
ตำบลเชียงคาน อำเภอเชียงคาน จังหวัดเลย 42110

ภาคผนวก จ
ส่วนประกอบของน้ำลายเทียม

เตรียมโดยภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยประกอบด้วย

โพแทสเซียมคลอไรด์	0.75 กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์	0.07 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	0.199 กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.965 กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.439 กรัม
โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	6 กรัม
ซอร์บิทอลร้อยละ 70	36 กรัม
โซเดียม เบนโซเอต	2.4 กรัม
น้ำปราศจากไอออน	1,200 มิลลิลิตร

นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องอบไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ฉ
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบวุ้นชนิดทริปติก ซอย

   ละลายผงทริปติกซอยแบบวุ้น 40 กรัมในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องอบไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาทีจากนั้นเทในจานเพาะเชื้อแล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียอย่างเหลวชนิดทริปติก ซอยที่มีสารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 0.5

   ละลายผงทริปติกซอยอย่างเหลว 30 กรัม และสารสกัดจากยีสต์ 5 กรัมในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องอบไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียอย่างเหลวชนิดทริปติก ซอยที่มีสารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 0.5 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 1

   ละลายผงทริปติกซอยอย่างเหลว 30 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม น้ำตาลซูโครส 20 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องอบไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ช
รายละเอียดข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

LDbaseline	ความลึกรอยผุก่อนการทดลอง
LDpost-test	ความลึกรอยผุหลังการทดลอง
meanMDbaseline	ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยในรอยผุชั้นเนื้อฟันก่อนการทดลอง
meanMDpost-test	ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยในรอยผุชั้นเนื้อฟันหลังการทดลอง
%MDchange	ร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลอง
LDbaseline_Saforide	ความลึกรอยผุก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มที่ทาด้วย Safaride®
LDpost-test_Saforide	ความลึกรอยผุหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มที่ทาด้วย Safaride®
LDbaseline_Advantage	ความลึกรอยผุก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มที่ทาด้วย Advantage Arrest™
LDpost-test_Advantage	ความลึกรอยผุหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มที่ทาด้วย Advantage Arrest™
LDbaseline_Control	ความลึกรอยผุก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มควบคุม
LDpost-test_Control	ความลึกรอยผุหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มควบคุม
meanMDbaseline_Saforide	ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟันกลุ่มที่ทาด้วย Safaride®
meanMDpost-test_Saforide	ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กลุ่มที่ทาด้วย Safaride®

meanMDbaseline_Advantage ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟัน กลุ่มที่ทาด้วย Advantage Arrest™

meanMDpost-test_Advantage ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟัน กลุ่มที่ทาด้วย Advantage Arrest™

meanMDbaseline_Control ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟัน กลุ่มควบคุม

meanMDpost-test_Control ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองของรอยผุชั้นเนื้อฟัน กลุ่มควบคุม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางแสดงความลึกรอยผุ (LD) ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย (meanMD) และร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (%MD change) ในรอยผุของแต่ละชิ้นฟันตัวอย่างในกลุ่มที่ทาสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Saforide®: Toyo Seiyaku Kesei Co. Ltd., Japan)

Sample No.	Lesion depth (μm)		Mean mineral density (mg HA/cm^3)		%MD change
	Baseline	Post-test	Baseline	Post-test	
7	370.81	285.63	771.42	939.71	21.82
10	903.82	732.18	605.30	946.33	56.34
15	689.42	622.97	774.49	1154.52	49.07
17	1003.28	951.76	572.03	973.41	70.17
29	871.99	839.01	436.09	879.64	101.71
33	900.21	590.79	778.46	1196.33	53.68
36	1118.17	1259.56	499.31	834.97	67.22
42	1469.49	1390.25	625.46	815.37	30.36
44	646.83	662.11	658.99	872.28	32.37
48	1802.62	1801.40	756.81	931.30	23.06
55	1814.53	1687.19	807.97	1179.65	46.00
60	1444.61	1224.70	390.46	851.35	118.03

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางแสดงความลึกรอยผุ (LD) ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย (meanMD) และร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (%MD change) ในรอยผุของแต่ละชิ้นฟันตัวอย่างในกลุ่มที่ทาสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (Advantage Arrest™: Elevate Oral Care)

Sample No.	Lesion depth (μm)		Mean mineral density (mg HA/cm^3)		%MD change
	Baseline	Post-test	Baseline	Post-test	
1	1093.78	837.00	705.39	956.27	35.57
8	224.60	270.84	825.77	1191.13	44.24
12	940.98	606.00	704.41	1118.74	58.82
20	894.56	641.79	484.67	952.20	96.46
22	1080.27	1107.60	538.63	877.18	62.85
25	1547.06	1257.63	513.60	940.63	83.14
34	601.61	520.53	602.22	938.70	55.87
37	678.31	619.57	756.14	972.50	28.61
38	1642.12	1254.27	598.82	957.55	59.91
50	766.72	868.11	568.49	879.91	54.78
53	1293.98	666.10	663.05	1007.42	51.94
61	919.74	966.268	863.34	973.19	12.72

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางแสดงความลึกรอยผุ (LD) ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย (meanMD) และร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (%MD change) ในรอยผุของแต่ละชิ้นฟันตัวอย่างในกลุ่มควบคุม

Sample No.	Lesion depth (μm)		Mean mineral density (mg HA/cm^3)		%MD change
	Baseline	Post-test	Baseline	Post-test	
3	1191.06	1117.77	857.86	903.22	5.29
5	740.09	706.97	487.31	484.60	-0.56
9	796.52	826.96	550.99	627.17	13.83
13	876.17	783.32	605.89	692.61	14.31
16	754.49	689.89	685.30	691.81	0.95
21	1470.69	1498.34	641.66	616.49	-3.92
24	491.56	506.18	971.44	921.09	-5.18
27	1144.51	1287.18	615.10	600.59	-2.36
28	1333.30	1071.52	851.41	844.23	-0.84
35	980.82	819.69	559.86	599.39	7.06
37	1371.12	1449.63	419.69	470.84	12.19
58	1479.23	1496.70	521.98	569.30	9.06

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์การกระจายของข้อมูลความลึกรอยผุ ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย ก่อนและหลังการทดลอง และร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลอง (Shapiro-Wilk test)

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Solution_type	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
LDbaseline	Saforide	.155	12	.200*	.941	12	.506
	Advantage arrest	.131	12	.200*	.976	12	.963
	Control	.139	12	.200*	.940	12	.496
LDpost_test	Saforide	.138	12	.200*	.953	12	.682
	Advantage arrest	.172	12	.200*	.952	12	.664
	Control	.212	12	.143	.912	12	.225
meanMDbaseline	Saforide	.209	12	.153	.909	12	.207
	Advantage arrest	.159	12	.200*	.955	12	.717
	Control	.180	12	.200*	.926	12	.340
meanMDpost_test	Saforide	.224	12	.097	.844	12	.031
	Advantage arrest	.282	12	.009	.834	12	.023
	Control	.192	12	.200*	.907	12	.196
percentMDchange	Saforide	.160	12	.200*	.909	12	.207
	Advantage arrest	.176	12	.200*	.969	12	.901
	Control	.175	12	.200*	.916	12	.256

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Chulalongkorn University

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความลึกรอยผุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนการทดลองระหว่างกลุ่ม (one-way ANOVA)

Test of Homogeneity of Variances

LDbase

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.573	2	33	.569

ANOVA

LDbase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	80212.452	2	40106.226	.254	.777
Within Groups	5214651.575	33	158019.745		
Total	5294864.027	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LDbase

	(I) solution_type	(J) solution_type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	Saforide	Advantage arrest	112.67083	162.28563	1.000	-296.6481	521.9897
		Control	33.85167	162.28563	1.000	-375.4672	443.1706
	Advantage arrest	Saforide	-112.67083	162.28563	1.000	-521.9897	296.6481
		Control	-78.81917	162.28563	1.000	-488.1381	330.4997
	Control	Saforide	-33.85167	162.28563	1.000	-443.1706	375.4672
		Advantage arrest	78.81917	162.28563	1.000	-330.4997	488.1381

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความลึกรอยผุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่มแต่ละกลุ่ม (Paired T-test)

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	LDpost-test_Saforide - LDbaseline_Saforide	-82.35250	116.89622	33.74503	-156.62482	-8.08018	-2.440	11	.033
Pair 2	LDpost-test_Advantage - LDbaseline_Advantage	-172.33517	221.44816	63.92658	-313.03662	-31.63372	-2.696	11	.021
Pair 3	LDpost-test_Control - LDbaseline_Control	-31.28417	109.01981	31.47131	-100.55205	37.98372	-.994	11	.342

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนการทดลองระหว่างกลุ่ม (one-way ANOVA)

Test of Homogeneity of Variances

meanMDbase

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.398	2	33	.675

ANOVA

meanMDbase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	927.124	2	463.562	.022	.978
Within Groups	695458.760	33	21074.508		
Total	696385.885	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: meanMDbase

	(I) solution_type	(J) solution_type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	Saforide	Advantage arrest	-12.31167	59.26566	1.000	-161.7923	137.1689
		Control	-7.64167	59.26566	1.000	-157.1223	141.8389
	Advantage arrest	Saforide	12.31167	59.26566	1.000	-137.1689	161.7923
		Control	4.67000	59.26566	1.000	-144.8106	154.1506
	Control	Saforide	7.64167	59.26566	1.000	-141.8389	157.1223
		Advantage arrest	-4.67000	59.26566	1.000	-154.1506	144.8106

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่มแต่ละกลุ่ม (Wilcoxon Signed Ranks test)

Test Statistics[a]

	meanMDpost-test_ Saforide - meanMDbaseline_Saforide	meanMDpost-test_ Advantage - meanMDbaseline_Advantage	meanMDpost-test_ Control - meanMDbaseline_Control
Z	-3.059[b]	-3.059[b]	-1.334[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002	.002	.182

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์เปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลองระหว่างกลุ่ม (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบพหุคูณ (Games-Howell)

Test of Homogeneity of Variances

percentMDchange

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.087	2	33	.026

ANOVA

percentMDchange

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20531.700	2	10265.850	21.156	.000
Within Groups	16012.999	33	485.242		
Total	36544.699	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: percentMDchange

	(I) solution_type	(J) solution_type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
Games-Howell	Saforide	Advantage arrest	2.07667	10.82424	.980	-25.2647	29.4180
		Control	51.66667*	8.89048	.000	28.0040	75.3293
	Advantage arrest	Saforide	-2.07667	10.82424	.980	-29.4180	25.2647
		Control	49.59000*	6.81296	.000	31.6241	67.5559
	Control	Saforide	-51.66667*	8.89048	.000	-75.3293	-28.0040
		Advantage arrest	-49.59000*	6.81296	.000	-67.5559	-31.6241

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวกันตพร คุณพนิชกิจ
วัน เดือน ปี เกิด	7 พฤศจิกายน 2530
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	20/13 สุขุมวิท ซอย 89/1 บางจาก พระโขนง กรุงเทพมหานคร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University