

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอะพาไซเคอร์® ในรูปแบบวานิชต่อค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคในเคลือบฟันปกติ การคืนกลับของแร่ธาตุในเคลือบฟันมนุษย์ที่มีรอยโรคสีขาวขุ่นและการลดปริมาณเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ซึ่งทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ การศึกษาความแข็งผิวระดับจุลภาคโดยการตัดชิ้นเคลือบฟันจากฟันกรามแท้ซี่ที่สาม แบ่งชิ้นเคลือบฟันแบบสุ่มเป็น 6 กลุ่มกลุ่มละ 8 ชิ้น กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่สองทาอะพาไซเคอร์® วานิช 1 นาทีสัปดาห์ละครั้ง กลุ่มที่สามทาอะพาไซเคอร์® วานิช 3 นาทีสัปดาห์ละครั้ง กลุ่มที่สี่ทาอะพาไซเคอร์® วานิช 5 นาทีสัปดาห์ละครั้ง กลุ่มที่ห้าทาฟลูออไรด์วานิช 3 นาทีหนึ่งครั้ง และกลุ่มที่หกทาฟลูออโรฟอสเฟตโพแทสเซียมโพสเฟตซินคิริม 3 นาทีทุกวัน เก็บชิ้นเคลือบฟันในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน วัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคก่อนและหลังทดลองโดยใช้เครื่องวัดความแข็งผิวแบบวิกเกอร์ ด้วยแรงกด 100 นิวตัน เป็นเวลา 15 วินาที

ผลการศึกษา พบว่าเคลือบฟันทั้ง 6 กลุ่มมีค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้น โดยมีค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคก่อนและหลังทดลองดังนี้คือ กลุ่มที่ 1)  $262.66 \pm 27.41$ ,  $268.35 \pm 26.49$ , กลุ่มที่ 2)  $275.84 \pm 22.42$ ,  $299.20 \pm 23.77$ , กลุ่มที่ 3)  $273.48 \pm 17.91$ ,  $297.57 \pm 17.61$ , กลุ่มที่ 4)  $257.49 \pm 23.42$ ,  $289.16 \pm 20.98$ , กลุ่มที่ 5)  $266.11 \pm 9.03$ ,  $287.86 \pm 7.88$  และกลุ่มที่ 6)  $288.32 \pm 16.97$ ,  $315.63 \pm 12.43$  เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการทาอะพาไซเคอร์® วานิชพบว่าทาอะพาไซเคอร์® วานิชที่เวลา 5 นาทีสามารถเพิ่มค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคได้มากที่สุด ซึ่งพบว่ามีค่าแตกต่างจากการทาที่เวลา 1 นาทีและ 3 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P=0.035$  and  $0.023$  ตามลำดับ) กลุ่มที่ทาอะพาไซเคอร์® วานิชทั้ง 3 กลุ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) แต่มีการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทาฟลูออไรด์วานิชและกลุ่มที่ทาฟลูออโรฟอสเฟตโพแทสเซียมโพสเฟตซินคิริม

การศึกษาผลของอะพาไซเคอร์® วานิชต่อการคืนกลับของแร่ธาตุในเคลือบฟันมนุษย์ที่มีรอยโรคสีขาวขุ่น โดยตัดชิ้นเคลือบฟันจากฟันกรามแท้ซี่ที่สาม นำไปผ่านกระบวนการทำให้เกิดรอยผุเทียม แบ่งชิ้นเคลือบฟันแบบสุ่มเป็น 4 กลุ่มกลุ่มละ 20 ชิ้นตามชนิดของสารที่ใช้ส่งเสริมการสะสมกลับของแร่ธาตุดังนี้ กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (ไม่ได้ทาสารใดๆ) กลุ่มที่สองทาฟลูออไรด์วานิช 3 นาทีหนึ่งครั้ง กลุ่มที่สามทาอะพาไซเคอร์® วานิช 3 นาทีสัปดาห์ละครั้ง และกลุ่มที่สี่ทาฟลูออโรฟอสเฟตโพแทสเซียมโพสเฟตซินคิริม 3 นาทีทุกวัน เก็บชิ้นเคลือบฟันในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน วัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเคลือบฟันก่อนการทดลอง หลังเกิดรอยโรคสีขาวขุ่น และหลังทาสารทดลอง

การศึกษาผลของอะพาไซเคอร์® วานิชต่อ การคืนกลับของแร่ธาตุบนผิวเคลือบฟันที่มีรอยโรคสีขาวขุ่น โดยใช้เครื่อง DIAGNOdent® พบว่าทั้ง 4 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าดังนี้คือ กลุ่มที่ 1)  $4.02 \pm 0.69$ , กลุ่มที่ 2)  $8.28 \pm 1.60$ , กลุ่มที่ 3)  $9.12 \pm 1.06$  และกลุ่มที่ 4)  $9.07 \pm 1.85$  โดยเคลือบฟันในกลุ่มที่ทาอะพาไซเคอร์® วานิชมีค่าเฉลี่ยความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์เพิ่มขึ้นมากกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่มีค่าเฉลี่ยความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทาฟลูออไรด์วานิชและกลุ่มที่ทาฟลูออไรด์วานิชและกลุ่มที่ทาฟลูออไรด์วานิช-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตชนิดครีม

ผู้เขียนเคลือบฟันในแต่ละกลุ่มไปถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดเพื่อดูลักษณะผิวเคลือบฟัน ถ่ายภาพจากกล้องโพลาริสเพื่อดูความลึกของรอยโรค และวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วยเครื่องทดสอบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์

จากการประเมินด้วยภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่พบว่าพื้นผิวเคลือบฟันที่ได้รับการทาอะพาไซเคอร์® วานิชมีความพรุนน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆและเมื่อพิจารณาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาริสพบว่าเคลือบฟันกลุ่มที่ได้รับการทาอะพาไซเคอร์® วานิชมีแนวโน้มที่สามารถลดความลึกของรอยโรคได้มากที่สุด นอกจากนี้จากการประเมินด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์พบว่าเคลือบฟันที่ทาอะพาไซเคอร์® วานิชมีพีคของไฮดรอกซีอะพาไทด์สูงที่สุดและยังพบพีคที่เป็นแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นอีกด้วย

การศึกษาผลของอะพาไซเคอร์® วานิชต่อการยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ด้วยวิธีการ Disc diffusion test โดยนำอะพาไซเคอร์® วานิชที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 10 20 และ 40 รวมทั้งฟลูออไรด์วานิชมาทาบนแผ่นกระดาษกรองสำหรับทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมกรดซिटริกพีเอช 4.4 เพื่อกระตุ้นให้เกิดการแตกตัวของสาร กลุ่มควบคุมผลบวกเป็นน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.1 และกรดซिटริกพีเอช 4.4 กลุ่มควบคุมผลลบเป็นแผ่นกระดาษกรองทาวานิชเบสที่ไม่มีส่วนผสมของอะพาไซเคอร์® ร่วมกับกรดซिटริก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาดูแนวยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่เกิดขึ้น

ผลการศึกษาพบว่าอะพาไซเคอร์® วานิชความเข้มข้นร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และร้อยละ 20 ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยกรดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของอะพาไซเคอร์® แล้วจะพบแนวยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่กว้างขึ้นตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแนวยับยั้งการเจริญเติบโตรอบๆกระดาษกรองที่ทาฟลูออไรด์วานิชมีความกว้างใกล้เคียงกับกระดาษกรองที่ทาอะพาไซเคอร์® วานิชร้อยละ 10

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอะพาไซเคอร์® วานิชสามารถเพิ่มความแข็งผิวระดับจุลภาค ส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุในฟันที่มีรอยโรคสีขาวขุ่น และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้

The study on the effects of Apacider<sup>®</sup> varnish on surface microhardness of sound enamel were determine using the enamel discs of extracted human third molars sectioned from buccal and lingual surface at the thickness of 3 mm., polished on the enamel surface to derive for the test area 3x3 mm. Whole enamel surfaces were covered with nail varnish except for the test area. Then, they were randomly divided into 6 groups as follows: group 1; control group (no treatment), group 2; applied Apacider<sup>®</sup> varnish for 1 minute/week, group 3; applied Apacider<sup>®</sup> varnish for 3 minutes/week, group 4; applied Apacider<sup>®</sup> varnish for 5 minutes/week; group 5; applied fluoride varnish for 3 minutes only the first day of treatment and group 6; daily applied CPP-ACP for 3 minutes. All samples were treated for 4 weeks and then stored in artificial saliva at 37°C for 30 days. Vickers microhardness was performed at before and after the treatments using Vicker microhardness test, load at 100 g., 15 seconds dwelling time.

The VHN before and after treatment in each groups were group 1)  $262.66 \pm 27.41$ ,  $268.35 \pm 26.49$ , group 2)  $275.84 \pm 22.42$ ,  $299.20 \pm 23.77$ , group 3)  $273.48 \pm 17.91$ ,  $297.57 \pm 17.61$ , group 4)  $257.49 \pm 23.42$ ,  $289.16 \pm 20.98$ , group 5)  $266.11 \pm 9.03$ ,  $287.86 \pm 7.88$  and group 6)  $288.32 \pm 16.97$ ,  $315.63 \pm 12.43$ . ANOVA and Tamhane multiple comparison revealed that the treated enamel microhardness in group (4) increased significantly compared to group (3) and (2) as well as group (1) at  $P < 0.05$ . However, there is no significant different between group (5) and (6) at  $\alpha = 0.05$ .

The effect of Apacider<sup>®</sup> varnish on remineralization of white spot lesion was tested using enamel discs prepared in the same method as previous described. Furthermore, all discs were surface induced for artificial caries by pH cycling methods (described by Kumar et al, 2009) and divided randomly into 4 groups as follows: group 1; control group (no treatment), group 2; applied fluoride varnish 3 minutes only in the first day of treatment, group 3; applied Apacider<sup>®</sup> varnish 3 minutes/week and group 4; daily applied CPP-ACP 3 minutes. All samples were treated for 4 weeks and stored in artificial saliva at 37°C for 30 days. Laser fluorescence measurements were performed before, after created white spot lesions and after treatment using the DIAGNOdent<sup>®</sup>.

The difference between fluorescence intensity before and after treatment in each groups were group 1)  $4.02 \pm 0.69$ , group 2)  $8.28 \pm 1.60$ , group 3)  $9.12 \pm 1.06$  and group 4)  $9.07 \pm 1.85$ . ANOVA and Tamhane multiple comparison were calculated at  $P=0.05$  and revealed that there were significantly different in each group compared to control group ( $P<0.05$ ). However, there was no significantly different between group (2) and (4).

The scanning electron microscope (SEM) were used to determine microscopically surface change as well as the depth of lesion was examined under the polarized light microscope. The X-ray diffractometer (XRD) was used to investigated the microscopic structure of crystallization change.

The SEM demonstrated that decreasing of the depth of lesion, surface roughness and porous was found in group treated with Apacider<sup>®</sup>. Polarized light microscopy demonstrated decreasing of the depth of lesion in group treated with Apacider<sup>®</sup>. The x-ray diffractometry obviously showed hydroxyapatite peak in accordance with calcium phosphate peak in group treated with Apacider<sup>®</sup>.

The effect of Apacider<sup>®</sup> varnish on *Streptococcus mutans* was determined by disc diffusion technique. Effects at the concentrations of 5%, 10%, 20% and 40% Apacider<sup>®</sup> varnish and fluoride varnish were applied to each paper discs (diameter of 6 mm) for sensitivity test. Then, citric acid pH 4.4 was added to the discs. Chlorhexidine mouthwash at concentration of 0.1% and citric acid pH4.4 were used as positive control group, while varnish matrix with citric acid was used as negative control. The agar plate was incubated at 37°C for 24 hour and then the inhibition zones were determined. The results showed that the inhibition zones were generated in group treated with 5%, 10%, 20% of Apacider<sup>®</sup> varnish and fluoride varnish.

This study suggested that Apacider<sup>®</sup> varnish increased surface microhardness, increased remineralization of white spot lesion on human dental enamel and inhibited the growth of *Streptococcus mutans*.