

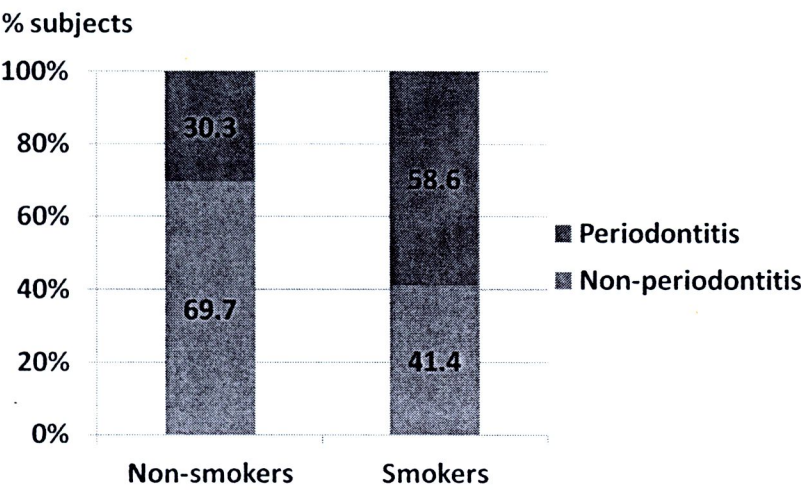
PCR quantification standards ที่ใช้สำหรับแบคทีเรียแต่ละชนิดประกอบด้วย recombinant DNA plasmid ที่มี PCR product insert ที่ได้จากการ amplify DNA ของ *P. gingivalis* ATCC 33277, *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29522 และ *T. forsythia* ATCC 43037

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การเปรียบเทียบความแตกต่างของตัวแปรที่เป็นความชุก ระหว่างกลุ่มที่ศึกษา ใช้สถิติ chi-square ส่วนการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดในคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก ของผู้ที่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ทำโดยใช้สถิติ t-test การทดสอบทางสถิติเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด จะใช้สถิติ logistic regression analysis โดยมีปัจจัยที่ต้องควบคุมคือการเป็นโรคปริทันต์อักเสบ

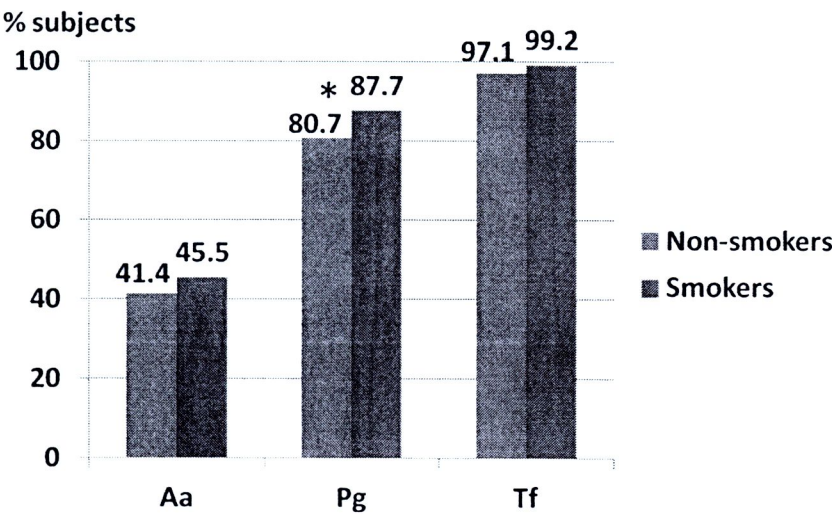
ผลการวิจัย

ประชากรที่ศึกษาประกอบด้วย ผู้ที่สูบบุหรี่จำนวน 244 คน และผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่จำนวน 244 คน กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นเพศชาย มีอายุตั้งแต่ 41 ถึง 60 ปี อายุเฉลี่ย 48.2 ± 4.4 ปี โดยพบว่าการสูบบุหรี่มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคปริทันต์อักเสบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) กล่าวคือผู้ที่สูบบุหรี่มีสัดส่วนคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบสูงถึง 58.6% เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ซึ่งมีสัดส่วนคนที่เป็นโรค 30.3% ดังแสดงในรูปที่ 1



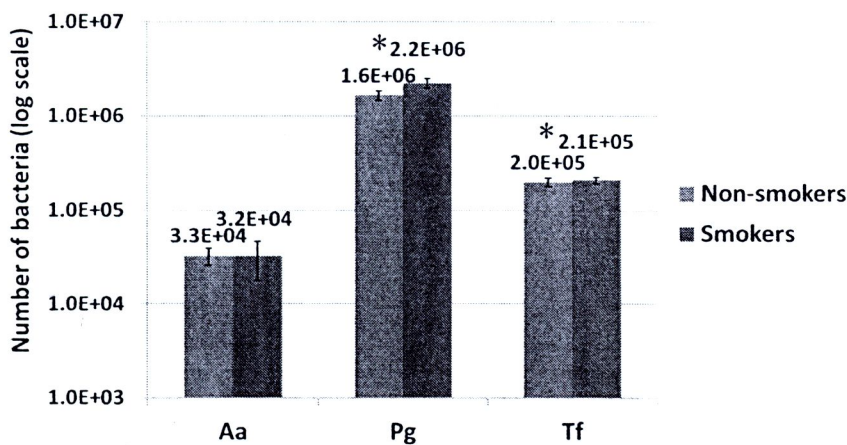
รูปที่ 1 แสดงสัดส่วนคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ระหว่างผู้ที่สูบและไม่สูบบุหรี่

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ได้เหงือก โดยวิธี Realtime PCR เพื่อตรวจหาแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ทั้ง 3 ชนิด พบว่าตรวจพบ *T. forsythia* ได้ในความชุกที่สูงที่สุด รองลงมาคือ *P. gingivalis* และ *A. actinomycetemcomitans* ตามลำดับ ผู้ที่สูบบุหรี่ ตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis* ได้บ่อยกว่าผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.035$) ขณะที่ความชุกของ *A. actinomycetemcomitans* และ *T. forsythia* ในคนที่สูบบุหรี่ พบว่าไม่แตกต่างจากคนที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงสัดส่วนคนที่ตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (Aa), *P. gingivalis* (Pg) และ *T. forsythia* (Tf) ระหว่างผู้ที่สูบและไม่สูบบุหรี่

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อในคนที่ตรวจพบเชื้อ ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 3 จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่ตรวจพบ สำหรับ *P. gingivalis* มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ *T. forsythia* และ *A. actinomycetemcomitans* ตามลำดับ โดยคนที่สูบบุหรี่ ตรวจพบปริมาณเชื้อ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* ได้สูงกว่าคนที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$ และ $P = 0.006$ ตามลำดับ) ส่วนปริมาณเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* นั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างคนที่สูบและไม่สูบบุหรี่



รูปที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (Aa), *P. gingivalis* (Pg) และ *T. forsythia* (Tf) ที่ตรวจพบระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่

เนื่องจากการตรวจพบเชื้อเพียงอย่างเดียว ไม่อาจทำให้เกิดโรคได้ เชื้อดังกล่าวจะต้องมีปริมาณมากพอเกิน threshold level จึงจะทำให้เกิดโรค จากการศึกษาที่ผ่านมา เราจึงใช้ ROC curve ในการหา threshold (cut-off) ของปริมาณเชื้อแต่ละชนิด ซึ่งให้ค่า sensitivity และ specificity สูงที่สุดในการแยกคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบออกจากคนที่ไม่เป็นโรค โดยค่า cut-off ที่ได้จากการศึกษาที่ผ่านมา แสดงในตารางที่ 1

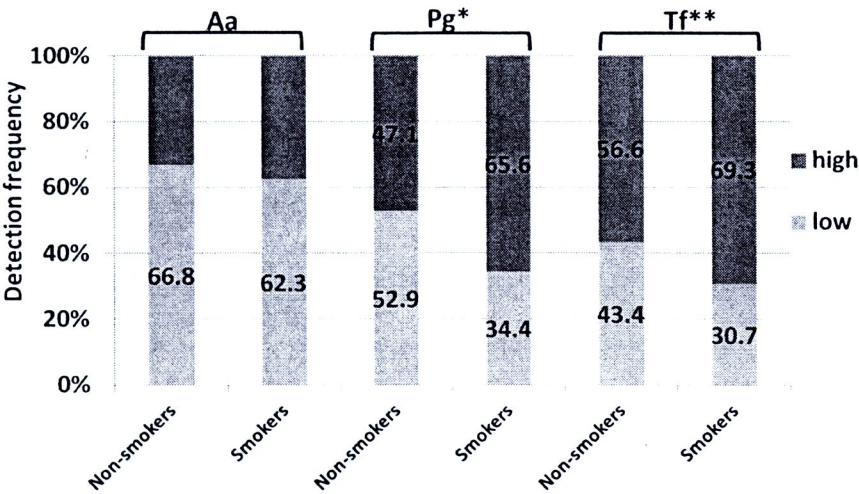
เราได้ใช้ค่า cut-off ดังกล่าว ทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง ออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อในปริมาณน้อยหรือต่ำกว่า cut-off (low) และกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อในปริมาณมาก หรือสูงกว่า cut-off (high) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 2 แสดงค่า cut-off ที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง ออกเป็นกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อในปริมาณน้อย (low) และกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อในปริมาณมาก (high)

Groups	Aa		P. gingivalis		T. forsythia	
	Cut-off	n	Cut-off	n	Cut-off	n
Low	≤73	315	≤3.9 x 10 ⁵	213	≤7.79 x 10 ⁴	181
High	>73	173	>3.9 x 10 ⁵	275	>7.79 x 10 ⁴	307

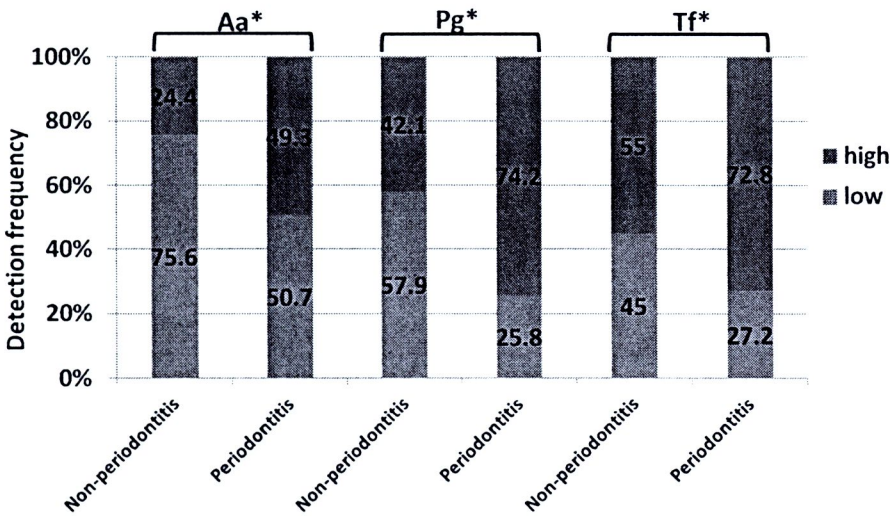
เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของคนที่ตรวจพบเชื้อในปริมาณน้อย (low) และมาก (high) ระหว่างคนที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4 โดยจะเห็นว่าไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans*

ในทางกลับกันคนที่สูบบุหรี่จะมีสัดส่วนของคนที่ตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* ในปริมาณมาก สูงกว่าคนที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$ และ $P = 0.004$ ตามลำดับ)



รูปที่ 4 แสดงสัดส่วนของคนที่ตรวจพบเชื้อแต่ละชนิด ในปริมาณน้อย (low) และมาก (high) ระหว่างคนที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ (* $P < 0.001$; ** $P = 0.004$)

นอกจากการสูบบุหรี่แล้ว ยังพบว่าการเป็นโรคปริทันต์อักเสบ มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงสัดส่วนของคนที่ตรวจพบเชื้อแต่ละชนิด ในปริมาณน้อย (low) และมาก (high) ระหว่างคนเป็นและไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (* $P < 0.001$)

เนื่องจากโรคปริทันต์อักเสบจัดเป็นตัวแปรบวกรวมที่มีผลต่อการตรวจพบเชื้อทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นในการหาความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อในคราบจุลินทรีย์ได้เห็อก จึงจำเป็นต้องปรับอิทธิพลของตัวแปรบวกรวม โดยอาศัย logistic regression analysis

ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 2, 3 และ 4 จะพบว่าหลังจากการปรับตัวแปรบวกรวม คือ การเป็นโรคปริทันต์อักเสบแล้ว ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* หรือ *T. forsythia* ในทางกลับกันคนที่สูบบุหรี่จะมีความเสี่ยงในการตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis* เพิ่มขึ้นเป็น 1.6 เท่า เมื่อเทียบกับคนที่ไม่สูบบุหรี่ ($P = 0.022$)

ตารางที่ 3 แสดงผลของ Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans*

Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Current smokers	0.877	0.586-1.313	0.525
Non-smokers	1 (ref)		
Periodontitis	3.140	2.098-4.700	<0.001
Non-periodontitis	1 (ref)		

ตารางที่ 4 แสดงผลของ Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis*

Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Current smokers	1.576	1.067-2.328	0.022
Non-smokers	1		
Periodontitis	3.527	2.365-5.260	<0.001
Non-periodontitis	1		

ตารางที่ 5 แสดงผลของ Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *T. forsythia*

Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Current smokers	1.444	0.979-2.131	0.064
Non-smokers	1		
Periodontitis	1.983	1.333-2.951	0.001
Non-periodontitis	1		

จากการทำ subgroup analysis โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่เป็นและ
ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ และทำ logistic regression analysis เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการ
สูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อทั้ง 3 ชนิด โดยเริ่มจากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ในกลุ่มที่ไม่เป็น
โรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งพบว่า การสูบบุหรี่ไม่มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ในกลุ่มนี้ ขณะที่ ผู้สูบบุหรี่จะมีความเสี่ยงในการตรวจพบเชื้อ *P. gingivalis* และ *T. forsythia* เพิ่มขึ้นเป็น 2.4 เท่า และ 2.1 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับคนที่ไม่
สูบบุหรี่ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 6 แสดงผลของ Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์
ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (Aa), *P. gingivalis*
(Pg) และ *T. forsythia* (Tf) ในคนที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ

Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Smoking vs Aa	1.226	0.695-2.162	0.482
Smoking vs Pg	2.403	1.451-3.980	0.001
Smoking vs Tf	2.115	1.269-3.524	0.004

ในทางกลับกัน จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นโรคปริทันต์
อักเสบ พบว่าการสูบบุหรี่ไม่มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อทั้ง 3 ชนิด ในกลุ่มนี้ ดังแสดงใน
ตารางที่ 6

ตารางที่ 7 แสดงผลของ Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์
ระหว่างการสูบบุหรี่และการตรวจพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (Aa), *P. gingivalis*
(Pg) และ *T. forsythia* (Tf) ในคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ

Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Smoking vs Aa	0.635	0.361-1.118	0.115
Smoking vs Pg	0.795	0.413-1.531	0.493
Smoking vs Tf	0.800	0.420-1.521	0.496