

## บทความวิจัย

# ประสิทธิภาพการคืนแร่ธาตุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในรอยผุ ชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนม: การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

กันตพร คุณพนิชกิจ<sup>1</sup>, ณัฐนันท์ โกวิทวัฒนา<sup>1</sup>, ชีรยุทธ วิไลวัลย์<sup>2</sup>, พนิดา ธัญญศรีสังข์<sup>3</sup> และ  
ชุตติมา ไตรรัตน์วรกุล<sup>1\*</sup>

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพการคืนแร่ธาตุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (SDF) จาก ร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุ (%MD-change) ของรอยผุชั้นเนื้อฟันที่ทา SDF ความเข้มข้นร้อยละ 38 ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยใช้ชิ้นฟันตัวอย่างจากฟันกรามน้ำนมที่มีรอยผุตามธรรมชาติในชั้นเนื้อฟันจำนวน 36 ชิ้น วัดความหนาแน่นแร่ธาตุ (MD) เริ่มต้นด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีคอมพิวเตอร์ระดับ ไมโครเมตร (micro-CT) แบ่งชิ้นฟันเป็น 3 กลุ่มด้วยวิธีสุ่มตัวอย่างแบบกลุ่มย่อยที่มีการเรียงลำดับ กลุ่มที่ 1 ทา Saforide (Toyo Seiyaku Kasei, Japan), กลุ่มที่ 2 ทา Advantage Arrest (Elevate oral care, USA) และกลุ่มที่ 3 ทา น้ำปราศจากไอออน (กลุ่มควบคุม) แล้วนำไปผ่านสภาวะช่องปากจำลองเป็นเวลา 5 วัน นำมาวัด MD หลังการทดลอง ด้วยเครื่อง micro-CT และคำนวณ %MD-change ผลการทดลองพบว่ากลุ่ม Saforide, Advantage Arrest และกลุ่ม ควบคุมมีค่า %MD-change เฉลี่ย  $54.55 \pm 29.64$ ,  $53.74 \pm 22.52$  และ  $4.15 \pm 7.05\%$  ตามลำดับ กลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มมี ค่า MD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า %MD-change ระหว่างกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันแต่แตกต่าง จากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปได้ว่า Saforide และ Advantage Arrest มีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุ ในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนมใกล้เคียงกัน

**คำสำคัญ:** การคืนแร่ธาตุ, ความหนาแน่นแร่ธาตุ, ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์, รอยผุชั้นเนื้อฟัน

<sup>1</sup>ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup>ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>3</sup>ภาควิชาจุลชีววิทยาและหน่วยปฏิบัติการวิจัยจุลชีววิทยาช่องปากและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*ผู้พิมพ์ประสานงาน, email: trairatthu@gmail.com

## ***In vitro* Remineralization Efficacy of Commercial Silver Diamine Fluoride on Dentine Caries Lesions in Primary Teeth**

**Kantaporn Kunpanichakit<sup>1</sup>, Nattanan Govitvattana<sup>1</sup>, Tirayut Vilaivan<sup>2</sup>,  
Panida Thanyasrisung<sup>3</sup> and Chutima Trairatvorakul<sup>1\*</sup>**

---

### **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the remineralization efficacy of silver diamine fluoride (SDF) by measuring the percentage of mineral density change (%MD-change) of dentine caries lesions after topical application of 38% commercial SDF. 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). They were randomized into three groups using a permuted-block randomization technique: Group 1, Saforide (Toyo Seiyaku Kasei, Japan); Group 2, Advantage Arrest (Elevate oral care, USA); Group 3, Deionized water (negative control). After the samples underwent 5-days bacterial pH-cycling challenge, the MD of dentine caries lesions was re-evaluated using micro-CT and %MD-change of each block was also calculated. The result showed that the mean %MD-change at day-5 of Saforide, Advantage Arrest and control groups were  $54.55 \pm 29.64$ ,  $53.74 \pm 22.52$  and  $4.15 \pm 7.05\%$ , respectively. The MD increase of Saforide and Advantage Arrest groups were significantly higher than their baseline. The mean %MD-change of these two groups were comparable, but significantly different from that of the control. In conclusion, Saforide and Advantage Arrest demonstrated similar remineralization efficacy on dentine caries lesions in primary teeth.

**Keywords:** Dentine Caries Lesions, Mineral Density, Remineralization, Silver Diamine Fluoride

---

<sup>1</sup>Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Research Unit on Oral Microbiology and Immunology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

\*Corresponding author email: trairatchu@gmail.com

## บทนำ

โรคฟันผุเป็นโรคของช่องปากที่มีความชุกในการเกิดมากที่สุดโรคหนึ่ง [1] สาเหตุการเกิดโรคฟันผุมาจากหลายปัจจัยร่วมกัน (multifactorial disease) ได้แก่ตัวฟัน เชื้อแบคทีเรีย น้ำลาย อาหารประเภทแป้งและน้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครส [2] ในปัจจุบันสมมติฐานการเกิดฟันผุที่ได้รับการยอมรับคือ สมมติฐานนิเวศวิทยาของคราบจุลินทรีย์ (Ecological plaque hypothesis) กล่าวคือเมื่อเชื้อแบคทีเรียมาเกาะติดบนแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่ผิวเคลือบฟัน จะเกิดกระบวนการหมักและเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก (lactic acid) ซึ่งทำให้ค่าความเป็นกรดต่าง(pH) ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ลดลงต่ำกว่าค่าวิกฤติของเคลือบฟัน คือ 5.2-5.5 [3] เป็นผลให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุของผิวฟัน เมื่อสภาพแวดล้อมมีสภาพเป็นกรด ชนิดของเชื้อที่พบในแผ่นคราบจุลินทรีย์ก็จะปรับเปลี่ยนเป็นกลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรดและสามารถผลิตกรดได้มากขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการก่อโรคฟันผุ [4]

เมื่อชั้นเคลือบฟันเกิดการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุอย่างต่อเนื่องจนแตกหักและเกิดเป็นโพรงขึ้น จะมีการรวมกลุ่มและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในชั้นเนื้อฟัน โดยเชื้อแบคทีเรียที่ควบคุมรอยโรคฟันผุในชั้นเนื้อฟันคือเชื้อประจำถิ่นสายพันธุ์ที่ทำให้สภาพแวดล้อมบริเวณรอยผุปราศจากออกซิเจน ทั้งสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดได้และสายพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรด [4]

Becker et al. (2002) [5] ได้ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่พบในรอยโรคฟันผุของเด็กปฐมวัย พบว่าเชื้อ *Streptococcus mutans* เป็นเชื้อที่สัมพันธ์กับการเกิดฟันผุทุกระดับตั้งแต่ชั้นเคลือบฟันจนถึงชั้นเนื้อฟัน ส่วนในรอยโรคฟันผุที่เป็นโพรงและรอยผุในชั้นเนื้อฟันจะพบเชื้อกลุ่ม *Bifidobacterium spp.* และ *Lactobacilli spp.* ด้วย [5]

ชั้นเนื้อฟันของมนุษย์มีแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 70 โดยมวล ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ช่วยจำกัดการซึมผ่านของกรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น และองค์ประกอบอินทรีย์ร้อยละ 20 โดยมวล [6] ร้อยละ 90 ขององค์ประกอบอินทรีย์คือคอลลาเจน โดยมีคอลลาเจนชนิดที่ 1 เป็นชนิดหลัก คอลลาเจนในชั้นเนื้อฟันทำหน้าที่เป็นโครงข่ายสำหรับการตกผลึกของแร่ธาตุ ซึ่งจะช่วยเสริมแรงและรองรับเคลือบฟันที่อยู่รอบ ๆ การเกิดฟันผุในชั้นเนื้อฟันประกอบด้วยกระบวนการละลายและสูญเสียแร่ธาตุคือไฮดรอกซีอะพาไทต์ซึ่งจะเกิดขึ้นก่อน จากนั้นจึงเกิดการย่อยสลายส่วนประกอบอินทรีย์คือ โครงข่ายคอลลาเจนชนิดที่ 1 โดยเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (Matrix metalloproteinases: MMPs) และคาเทปซิน (Cathepsin) [4] ค่าความเป็นกรด-ต่างวิกฤติของเนื้อฟันคือ 6.7 [7] เมื่อเกิดรอยโรคฟันผุขึ้นในชั้นเนื้อฟันจึงมีการลุกลามได้อย่างรวดเร็วกว่าการเกิดฟันผุในชั้นเคลือบฟัน

จากการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 8 (พ.ศ.2560) พบว่าโรคฟันผุยังคงเป็นปัญหาสำคัญในเด็กก่อนวัยเรียน โดยเด็กอายุ 3 ปีและ 5 ปีมีความชุกในการเกิดโรคฟันผุร้อยละ 52.9 และ 75.6 ตามลำดับ [8] พบว่าเด็กที่มีฟันผุและไม่ได้รับการรักษาจนก่อให้เกิดอาการปวด จะส่งผลกระทบต่อรับประทานอาหาร การนอนหลับ การเจริญเติบโต พัฒนาการทางสติปัญญาและคุณภาพชีวิตของเด็ก [9] ปัญหาการเข้าถึงบริการทางทันตกรรมเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เด็กได้รับการวินิจฉัยโรคและการรักษาที่ล่าช้า

ปัจจุบันแนวคิดในการจัดการฟันผุที่เป็นโพรง ได้มุ่งเน้นการหยุดยั้งและควบคุมรอยผุรวมถึงการบูรณะที่ใช้วิธีการรุกรานน้อย (minimal invasive restorative treatment) มากกว่าการกำจัดเนื้อฟัน โดยมีเป้าหมายเพื่อควบคุมกระบวนการเกิดฟันผุ รักษาเนื้อฟันไว้ หลีกเลี่ยงการเริ่มต้นวงจรการบูรณะฟันและรักษาฟันไว้ให้นานที่สุด [10] จากแนวคิดดังกล่าวจึงมีการศึกษาถึงวิธีการจัดการเพื่อหยุดยั้งรอยผุอย่างมีประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่ายน้อย ทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้วิธีการหรือวัสดุอุปกรณ์ที่ซับซ้อน เพื่อนำมาใช้จัดการรอยโรคฟันผุในเด็กกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงและมีข้อจำกัดในการเข้าถึงบริการทางทันตกรรม

ซิลเวอร์ไอโอดีนฟลูออไรด์เป็นสารที่ได้รับการรับรองจากกระทรวงสาธารณสุขประเทศญี่ปุ่นว่าเป็นสารที่ใช้ในการรักษา โดยจากการศึกษาของ Yamaka et al. (1972) [11] พบว่าซิลเวอร์ไอโอดีนฟลูออไรด์เป็นสารที่สามารถหยุดยั้งรอยผุในฟันหน้านมและยับยั้งการเกิดรอยผุทุติยภูมิ [11] ส่วนสมาคมทันตกรรมสำหรับเด็กแห่งสหรัฐอเมริกาได้พิจารณาถึงประโยชน์ของการใช้ซิลเวอร์ไอโอดีนฟลูออไรด์ในการหยุดยั้งรอยโรคฟันผุในฟันหน้านมในกลุ่มผู้ป่วยเด็กเล็กและผู้ป่วยที่มีความต้องการพิเศษ รวมถึงเป็นส่วนหนึ่งของการให้การรักษาทางทันตกรรมแบบพร้อมมูล [12]

ซิลเวอร์ไอโอดีนฟลูออไรด์เป็นสารละลายไอ ไม่มีสี เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะหนัก มีสูตรทางเคมีคือ  $Ag(NH_3)_2F$  จากการที่แอมโมเนียไอออนจับกับซิลเวอร์ไอออน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไอออนเชิงซ้อน คือไอโอดีนซิลเวอร์

ไอออน ( $[Ag(NH_3)_2]^+$ ) ซึ่งมีความเสถียรทำให้สามารถเก็บไว้ได้นานโดยมีความเข้มข้นที่คงตัว เมื่อทาบรอยผุและสัมผัสกับแสงหรือสารรีดิวซ์จะเกิดสีดำขึ้น [13]

ในปัจจุบันซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด มีหลากหลายยี่ห้อและความเข้มข้น จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นร้อยละ 38 มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งรอยผุได้ดีที่สุด โดยซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ประกอบด้วย ซิลเวอร์ไอออน ( $Ag^+$ ) 253,900 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และฟลูออไรด์ไอออน (F) 44,800 ส่วนในล้านส่วน มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 10 [14] Fung et al. (2016) [15] ได้ศึกษาประสิทธิภาพการหยุดยั้งรอยผุในชั้นเนื้อฟันน้ำนมเปรียบเทียบระหว่างการใส่ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 12 และ 38 ความถี่ในการทาทุก 6 เดือนและ 1 ปี พบว่าการใส่ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ทุก 6 เดือน ให้ผลในการหยุดยั้งรอยผุที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปีละ 1 ครั้ง และการใส่ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 12 ทุก 6 เดือนและ 1 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [15]

Lo et al. (2001) [16] ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 และฟลูออไรด์วาร์นิชความเข้มข้นร้อยละ 5 ในการหยุดยั้งรอยผุของฟันหน้าน้ำนมบนที่ผู้ถึงชั้นเนื้อฟันในเด็กปฐมวัย เมื่อติดตามผลที่ 18 เดือนพบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ให้ผลดีกว่า และไม่มีผลจำเป็นต้องกำจัดรอยผุออกก่อนทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ เนื่องจากพบว่าให้ผลในการหยุดยั้งรอยผุในฟันน้ำนมไม่แตกต่างกัน [16]

ข้อด้อยหลักของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์คือติดสีดำบริเวณที่ทา ซึ่งเด็กและผู้ปกครองอาจไม่พอใจในเรื่องความสวยงาม [16] แม้จะมีรายงานการเกิดรอยโรคสีเขาวนขนาดเล็กบริเวณเนื้อเยื่อที่สัมผัสโดยตรงกับซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ มีอาการเจ็บเล็กน้อย แต่พบว่าสามารถหายได้เองภายใน 48 ชั่วโมงโดยไม่ต้องให้การรักษาใด ๆ [17]

มีการรายงานถึงปริมาณซิลเวอร์ที่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันและเสียชีวิตเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Oral lethal dose : Oral LD<sub>50</sub>) [18] และปริมาณฟลูออไรด์ที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดอาการแสดงของพิษอย่างเฉียบพลันเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Probably toxic dose : PTD) [19] เมื่อพิจารณาถึงประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้ป่วยและความปลอดภัยแล้ว สมาคมทันตกรรมสำหรับเด็กแห่งสหรัฐอเมริกาจึงได้เสนอให้การใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการรอยผุ [12]

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งรอยผุสูงและมีความปลอดภัยในการใช้ มีความเหมาะสมในการนำมาใช้กับผู้ป่วยที่มีข้อจำกัดในการเข้าถึงการรักษาทางทันตกรรม อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ยี่ห้อต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในการคืนแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนม การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 2 ชนิดในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนม โดยศึกษาจากการร้อยละเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุ

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษานี้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในมนุษย์ และผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ จากคณะกรรมการควบคุมความปลอดภัยทางชีวภาพ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้คือ ชั้นส่วนของฟันกรามน้ำนมที่ตัดจากฟันกรามน้ำนมของมนุษย์ซึ่งได้รับการถอนด้วยเหตุผลทางทันตกรรม โดยมีหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างดังนี้

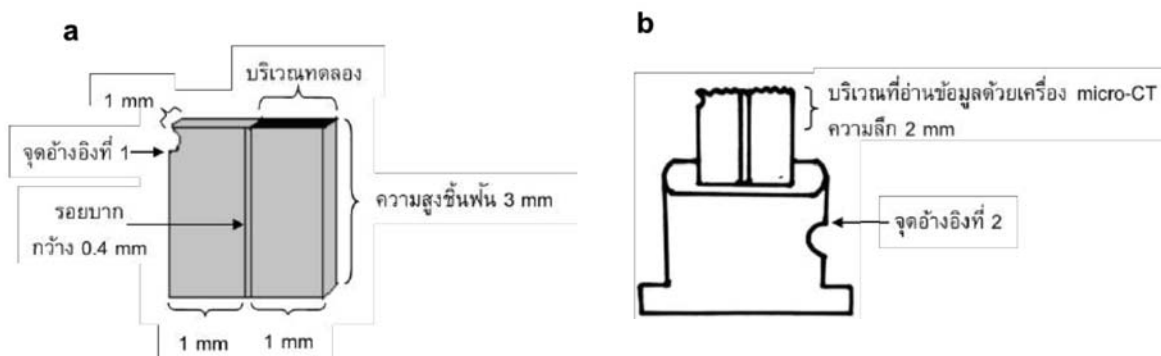
หลักเกณฑ์การคัดเลือกเข้า : ชั้นส่วนฟันกรามน้ำนมซี่ที่ 1 และ 2 ของขากรรไกรบนและล่างในบริเวณที่มีรอยผุตามธรรมชาติในชั้นเนื้อฟันในระยะชั้นนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาแน่นชั้นเนื้อฟัน

หลักเกณฑ์การคัดออก : ชั้นส่วนของฟันกรามน้ำนมซี่ที่ 1 และ 2 ของขากรรไกรบนและล่างที่มีรอยโรคฟันผุซึ่งหยุดลุกลามแล้ว, มีรอยผุจำกัดอยู่ในชั้นเคลือบฟัน, ส่วนที่มีรอยผุทะลุโพรงประสาทฟัน, มีรอยร้าว, มีวัสดุบูรณะ, มีความผิดปกติของการสร้างฟันและฟันที่มีขนาดเล็ก ไม่สามารถเตรียมขึ้นฟันได้ตามวิธีการเตรียมขึ้นฟันตัวอย่าง

การศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่มโดยอ้างอิงจากการศึกษาของ Mei et al. (2013) [20] กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ค่าความถี่รอยผุเฉลี่ย กำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ไม่ยอมรับสมมติฐานเป็นจริง ( Type I error,  $\alpha$ ) เท่ากับ 0.05 และกำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับสมมติฐานที่ไม่เป็นจริง ( Type II error,  $\beta$ ) เท่ากับ 0.2 กำหนด

ขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตรจากโปรแกรม n4Studies โดยเลือกใช้ค่าเฉลี่ย 2 ค่าที่เป็นอิสระต่อกัน (Two independent means) ได้จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม 12 ชิ้น

เตรียมชิ้นฟันตัวอย่างให้มีขนาด 1X2.4X3 มิลลิเมตร ทั้งหมด 36 ชิ้น ทำรอยบากกึ่งกลางชิ้นฟันด้านหน้า ตามความสูงของชิ้นฟันกว้าง 0.4 มิลลิเมตรตลอดแนวเพื่อแบ่งฟันเป็น 2 ส่วนได้แก่ ส่วนทดลองและส่วนควบคุม กำหนดพื้นที่ส่วนทดลองคือบริเวณที่จะทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์เป็นหน้าต่างขนาด 1x1 ตารางมิลลิเมตร และใช้เข็มกรอกกากเพชรเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร กรอบบริเวณด้านข้างของชิ้นฟันเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 1 ในการวัดความหนาแน่นแร่ธาตุด้วยเครื่องถ่ายภาพรังสีระดับไมโครเมตร (micro-CT) ทาเคลือบชิ้นฟันตัวอย่างด้วยน้ำยาทาเล็บให้ทั่วยกเว้นพื้นที่ทดลอง ทำรอยบากด้านข้างแทนยึดเรซินด้วยหัวกรอกกากเพชรเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 2 นำชิ้นฟันตัวอย่างมายึดกับแท่นยึดด้วยซีฟิ่ง (ภาพที่ 1) นำมาวัดปริมาณความหนาแน่นแร่ธาตุเริ่มต้นด้วยเครื่อง micro-CT ในหน่วยมิลลิกรัมไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร( $\text{mg HA/cm}^3$ ) โดยวัดตั้งแต่ส่วนบนสุดของรอยผุจนถึงระดับที่เนื้อฟันมีความหนาแน่นแร่ธาตुर้อยละ 95 ของความหนาแน่นแร่ธาตุเนื้อฟันปกติ จากนั้นนำชิ้นฟันที่ยึดกับแท่นยึดและภาดหลุมสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยแก๊สฟอร์มัลดีไฮด์ และตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงเพื่อให้แก๊สระเหย



ภาพที่ 1 การเตรียมชิ้นฟันตัวอย่าง (a) ชิ้นฟันตัวอย่าง ทาน้ำยาทาเล็บยกเว้นบริเวณทดลอง 1X1 ตารางมิลลิเมตร, (b) ชิ้นฟันตัวอย่างที่ยึดบนแทนยึดเรซิน ทำรอยบากด้านข้างแทนยึดเพื่อเป็นจุดอ้างอิงที่ 2

แบ่งชิ้นฟันตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ชิ้นด้วยวิธีสุ่มตัวอย่างแบบกลุ่มย่อยที่มีการเรียงลำดับ (Permuted-block randomization) จากนั้นแช่ชิ้นฟันตัวอย่างในน้ำลายเทียมปราศจากเชื้อเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำชิ้นฟันมาทาสารดังนี้

กลุ่มที่ 1 : ทาด้วยสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ( Saforide : Toyo Seiyaku Kasei Co. Ltd.)

ปริมาตร 5 ไมโครลิตรเป็นเวลา 3 นาทีและล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 มิลลิตร

กลุ่มที่ 2 : ทาด้วยสารละลายซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ( Advantage Arrest : Elevate oral care)

ปริมาตร 5 ไมโครลิตรเป็นเวลา 3 นาทีและล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 5 มิลลิตร

กลุ่มที่ 3 : กลุ่มควบคุม ทาด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อ

เตรียมสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดได้แก่ เชื้อ *Streptococcus mutans* สายพันธุ์ ATCC25175 และเชื้อ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ IFO3533 นำสารละลายที่มีเชื้อแต่ละชนิดที่ความทึบแสง (Optical density: OD) เท่ากับ 0.1 ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร มาผสมกันในสัดส่วน 1:1 จะได้สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง  $6.26 \pm 0.17$  โดยมีปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* เริ่มต้นคือ  $6.10 \times 10^7$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) และเชื้อ *Lactobacillus casei* เริ่มต้นคือ  $9.30 \times 10^7$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร

นำชิ้นฟันตัวอย่างที่ทาสารคืนแร่ธาตุทั้ง 3 กลุ่มมาผ่านกระบวนการสลับกรด-ด่าง (pH-cycling) เพื่อจำลองสภาวะในช่องปาก โดยแช่ในสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อ 1 ชิ้นฟันตัวอย่างเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แช่ชิ้นฟันตัวอย่างในน้ำลาย

เทียบชนิดไม่มีฟลูออไรด์ปราศจากเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อ 1 ซึ้นฟันตัวอย่างเป็นเวลา 20 ชั่วโมงแล้วนำมาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แช่สลับเป็นจำนวนทั้งหมด 5 รอบ

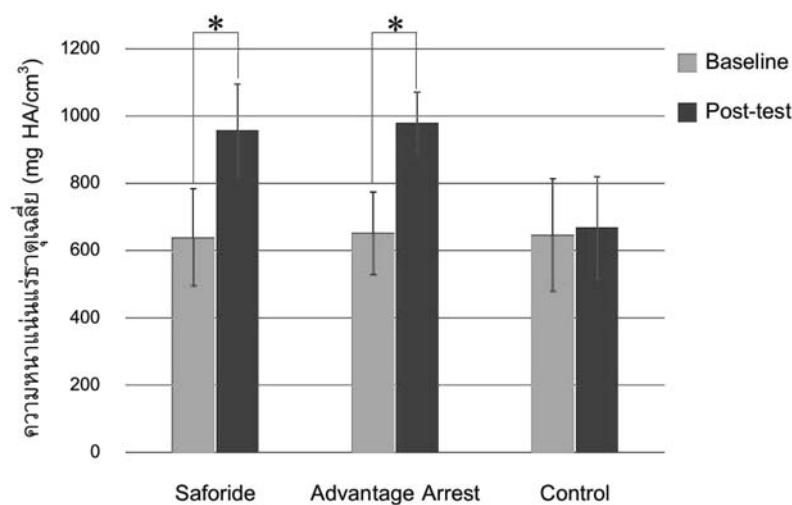
นำซึ้นฟันตัวอย่างที่ผ่านการจำลองสภาวะในช่องปากแล้วไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยแก๊สฟอรั่มลดีไฮด์ จากนั้นนำมาวัดความหนาแน่นแร่ธาตุด้วยเครื่อง micro-CT โดยวัดที่ระดับเดียวกับก่อนการทดลอง และคำนวณร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุของซึ้นฟันตัวอย่างแต่ละซึ้นภายหลังการทดลอง

วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยของซึ้นฟันก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่มแต่ละกลุ่มโดยใช้สถิติ Wilcoxon Signed Ranks test และวิเคราะห์เปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยภายหลังการทดลองระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ one-way ANOVA จากนั้นทดสอบความแตกต่างในแต่ละคู่ด้วยสถิติ Bonferroni โดยการทดสอบทางสถิติทั้งหมดกำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05

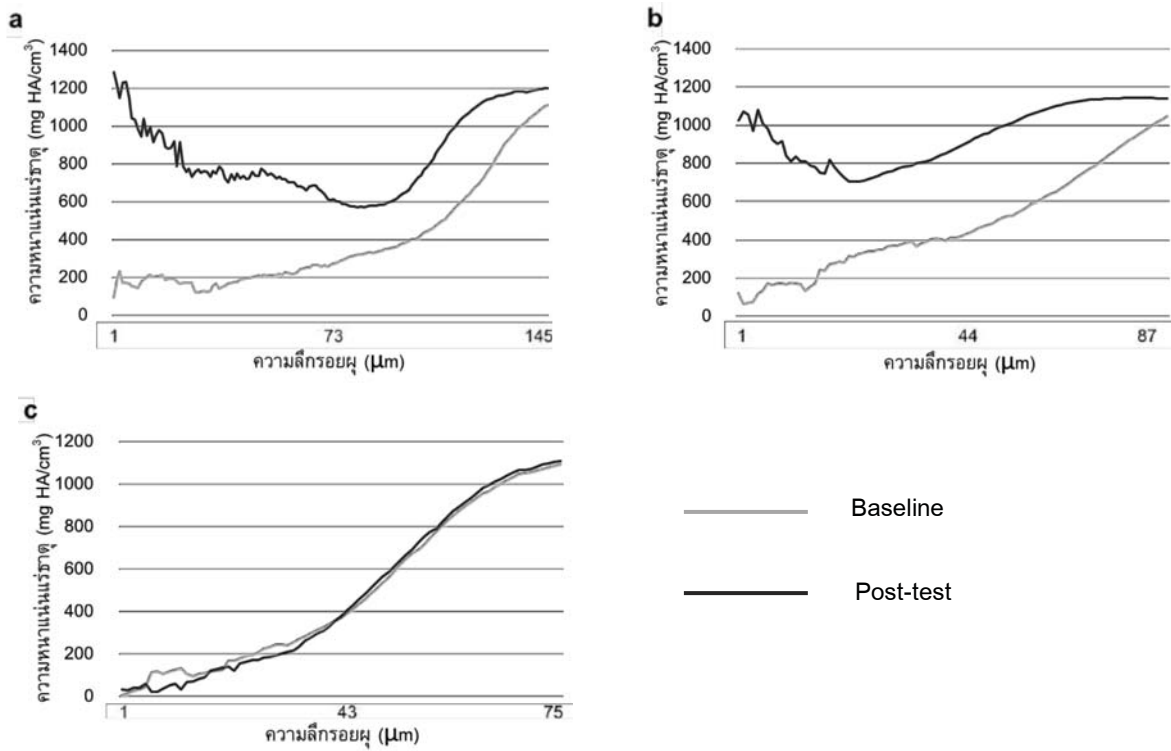
## ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองพบว่ากลุ่ม Saforide, Advantage Arrest และกลุ่มควบคุม มีความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย  $639.73 \pm 143.47$ ,  $652.04 \pm 122.00$  และ  $647.37 \pm 166.60$  mg HA/cm<sup>3</sup> ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ภายหลังการทดลองพบว่ากลุ่ม Saforide และ Advantage Arrest มีความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย  $957.32 \pm 138.56$  และ  $980.45 \pm 90.63$  mg HA/cm<sup>3</sup> ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.002$ ) (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทาสารทั้งสองชนิดมีลักษณะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในบริเวณชั้นนอกของรอยผุจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลงและเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อเริ่มเข้าไปใกล้เนื้อฟันปกติ (ภาพที่ 3) ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่ามี ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลอง  $668.44 \pm 149.98$  mg HA/cm<sup>3</sup> ซึ่งไม่แตกต่างกับก่อนการทดลอง ( $p = 0.182$ ) (ภาพที่ 2)

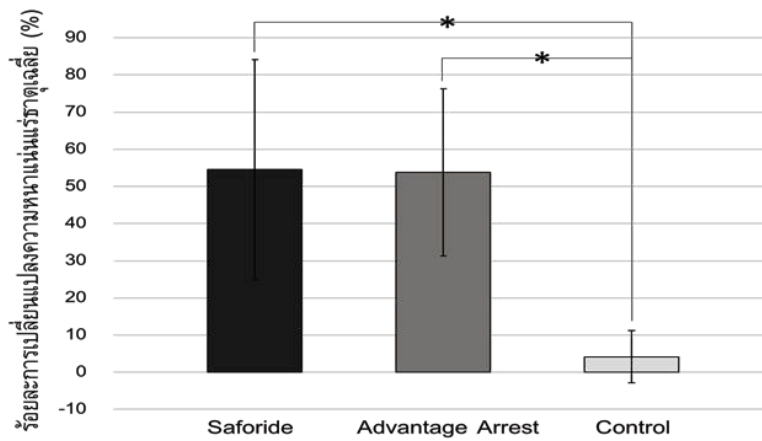
เมื่อวิเคราะห์ร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ย พบว่ากลุ่ม Saforide, Advantage Arrest และกลุ่มควบคุม มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยร้อยละ  $54.55 \pm 29.64$ ,  $53.74 \pm 22.52$  และ  $4.15 \pm 7.05$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม พบว่ากลุ่ม Saforide และ Advantage Arrest มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) และทั้งสองกลุ่มมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยหลังการทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2 ความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองในแต่ละกลุ่ม โดย \* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 3 ความหนาแน่นแร่ธาตุที่ระดับความลึกต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่ม (a) Saforide, (b) Advantage Arrest และ (c) Control



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นแร่ธาตุเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม โดย \* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของซิลเวอร์ไดออกไซด์เอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 ในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟัน โดยใช้ชิ้นฟันตัวอย่างจากฟันกรามน้ำนมในบริเวณรอยผุระยะนอก 1/3 ถึงระยะกลาง 1/3 ของความหนาชั้นเนื้อฟันและไม่กำจัดรอยผุออก เนื่องจากการศึกษาของ Lo et al. (2001) [16] พบว่าการกำจัดรอยผุ

ออกก่อนหรือไม่ ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการหยุดยั้งรอยผุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ [16] ซึ่ฟันตัวอย่างทั้งหมดจะผ่านสภาวะช่องปากจำลองโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย ซึ่งการใช้สภาวะช่องปากจำลองเป็นวิธีที่เหมาะสมเนื่องจากสามารถควบคุมปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ และผลที่ได้สามารถใช้ทำนายผลในทางคลินิกได้ แต่อย่างไรก็ตาม การจำลองสภาวะช่องปากโดยใช้เชื้อแบคทีเรียยังคงมีข้อจำกัดเนื่องจากเชื้อที่พบในช่องปากนั้นมีมากกว่า 700 สายพันธุ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถทำการจำลองสภาวะช่องปากให้เหมือนสภาวะจริงได้ทั้งหมด [21] การศึกษาในครั้งนี้เลือกใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ เชื้อ *สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (Streptococcus mutans)* และเชื้อ *แลคโตบาซิลลัส เคซีโอ (Lactobacillus casei)* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบในรอยผุชั้นเนื้อฟัน [5] และค่าความเป็นกรด-ต่างวิกฤติของเนื้อฟันคือ 6.7 [7] ในการเตรียมสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุโดยใช้เชื้อแบคทีเรียสำหรับการศึกษาครั้งนี้ จึงเตรียมสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ต่าง 6.26 ± 0.17 ซึ่งต่ำกว่าค่าความเป็นกรด-ต่างวิกฤติของเนื้อฟัน ในการวัดความหนาแน่นแร่ธาตุของรอยผุใช้เครื่อง micro-CT ซึ่งสามารถสร้างภาพสามมิติและวัดซ้ำได้หลายครั้งโดยไม่ต้องทำลายชิ้นงาน จึงใช้วัดความหนาแน่นแร่ธาตุของชิ้นฟันตัวอย่างก่อนและหลังผ่านสภาวะช่องปากจำลองได้ [22]

กระบวนการหยุดยั้งรอยผุและคืนแร่ธาตุของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์แบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่เกิดกับฟันและส่วนที่เกิดกับแบคทีเรีย ส่วนที่เกิดกับฟันนั้น เมื่อทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์บนรอยผุจะเกิดปฏิกิริยากับส่วนประกอบหลักของฟันคือไฮดรอกซีอะพาไทต์ ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) ได้ผลิตภัณฑ์หลักคือแคลเซียมฟลูออไรด์ ( $\text{CaF}_2$ ) และ ซิลเวอร์ฟอสเฟต ( $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ ) โดยแคลเซียมฟลูออไรด์จะเป็นแหล่งเก็บฟลูออไรด์ไอออน ( $\text{F}^-$ ) ส่วนซิลเวอร์ฟอสเฟตจะเป็นแหล่งเก็บฟอสเฟตไอออน ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) เพื่อใช้ในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างจากไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นฟลูออราพาไทต์ซึ่งมีความต้านทานต่อการกรดมากขึ้น [13] ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้สลายคอลลาเจนได้แก่ MMPs และ Cathepsin เป็นการป้องกันการย่อยสลายของโครงข่ายคอลลาเจนในชั้นเนื้อฟัน จากการศึกษาของ Mei et al. (2012) [23] พบว่าซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 สามารถยับยั้งการทำงานของ MMP-2, MMP-8 และ MMP-9 ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 และ 12 [23] เมื่อคอลลาเจนในชั้นเนื้อฟันไม่ถูกทำลาย จึงยังสามารถทำหน้าที่เป็นโครงข่ายเพื่อให้แคลเซียมและฟอสเฟตมาตกตะกอนและสร้างเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ขึ้น นอกจากนี้ซิลเวอร์ไอออนความเข้มข้นสูงในซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยังมีผลต่อการปรับเปลี่ยนโครงสร้างคอลลาเจนทั้งทางกายภาพและเคมี ให้มีความแข็งแรงและสามารถต้านทานต่อการถูกทำลายได้ดีขึ้น [20] ส่วนผลต่อแบคทีเรียเกิดจากการที่ซิลเวอร์ฟอสเฟตแตกตัวให้ซิลเวอร์ไอออน ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียผ่าน 3 กลไกหลักคือ ทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของเอนไซม์ในไซโทพลาสซึมและยับยั้งกระบวนการถ่ายแบบดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย [13]

ปริมาณซิลเวอร์ที่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันและเสียชีวิตเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Oral lethal dose : Oral LD<sub>50</sub>) คือ 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม [18] ส่วนปริมาณฟลูออไรด์ที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดอาการแสดงของพิษอย่างเฉียบพลันเมื่อได้รับสารผ่านทางปาก (Probably toxic dose : PTD) คือ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม [19] ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ 1 หยด (25 ไมโครลิตร) สามารถทาฟันได้ประมาณ 5 ซี่ จะมีซิลเวอร์ ( $\text{Ag}^+$ ) 7.2 มิลลิกรัมและฟลูออไรด์ ( $\text{F}^-$ ) 1.475 มิลลิกรัม ในเด็กอายุ 1, 2 และ 3 ปี ซึ่งมีน้ำหนักตัว 10, 12 และ 14 กิโลกรัมโดยประมาณ จะมีค่า LD<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> ของเด็กทั้งสามช่วงอายุและมีฟลูออไรด์ 5.9 มิลลิกรัมซึ่งต่ำกว่าค่า PTD ของเด็กทั้งสามช่วงอายุเช่นกัน การใช้ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์จึงมีความปลอดภัย

จากการศึกษาพบว่าชิ้นฟันตัวอย่างในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มที่ได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ มีความหนาแน่นแร่ธาตุหลังการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุอย่างรวดเร็วในบริเวณชั้นนอกของรอยผุ จากนั้นความหนาแน่นแร่ธาตุจะลดลงและค่อยๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อเริ่มเข้าใกล้เนื้อฟันปกติ (ภาพที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mei et al. (2013) [21] ที่พบว่ารอยผุชั้นเนื้อฟันนั้นบริเวณความลึก 25-50 ไมครอนจากชั้นนอกของรอยผุซึ่งได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 จะมีค่าร้อยละ



แคลเซียมและฟอสเฟตโดยนำหนักสูงกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์สัมผัสกับรอยผุชั้นเนื้อฟัน จะทำปฏิกิริยากับเนื้อฟันได้ผลิตภัณฑ์คือ แคลเซียมฟลูออไรด์ ซิลเวอร์ฟอสเฟตและซิลเวอร์โปรตีน ซึ่งไม่ละลายน้ำและตกตะกอนปกคลุมบนชั้นนอกของเนื้อฟัน เป็นการลดการสูญเสียแคลเซียมและฟอสเฟตออกจากรอยผุ การที่รอยผุชั้นนอกมีแร่ธาตุเพิ่มขึ้นนี้ยังสัมพันธ์กับการมีความแข็งแรงผิวของรอยผุที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย [21] ส่วนการศึกษาของ Mei et al. (2014) [24] พบว่า เมื่อนำฟันน้ำนมชั้นเนื้อฟันที่ได้รับการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 และมีการหยุดยั้งของรอยผุแล้วมาตรวจด้วยเครื่อง micro-CT จะพบแถบที่บร้งสีลึก 150 ไมครอนจากผิวของรอยผุรวมทั้งพบแคลเซียมและฟอสเฟตหนาแน่นในบริเวณนี้มากกว่าบริเวณด้านในของรอยผุ [24]

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างแผ่นชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย โดยฟลูออไรด์จะยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่เชื้อแบคทีเรียใช้ในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลเช่น เอนไซม์อินโนเลส (Enolase) ส่วนซิลเวอร์จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (Glycosyltransferase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างกลูแคน(Glucan) จากการย่อยน้ำตาลซูโครสเพื่อใช้ในการยึดเกาะของเชื้อกับผิวฟัน เมื่อเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถผลิตสารตั้งต้นที่ใช้ในการยึดเกาะผิวฟันได้ จึงไม่สามารถสร้างแผ่นชีวภาพขึ้นบนผิวฟัน [21]

จากคุณสมบัติต่าง ๆ ดังกล่าวของซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์และจากผลการทดลองในครั้งนี้จึงสรุปได้ว่า Saforide และ Advantage Arrest มีประสิทธิภาพในการคืนแร่ธาตุในรอยผุชั้นเนื้อฟันของฟันน้ำนม

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก ศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย ฝ่ายทันตสาธารณสุข โรงพยาบาลเชียงใหม่ ในการจัดหาฟันตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิจัย คณะจารย์และบุคลากรทุกท่านที่ช่วยเหลือ สนับสนุน ตลอดจนให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Kassebaum, N. J., Bernabe, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J., & Marcenes, W. (2015). Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res*, 94(5), 650-658. doi: 10.1177/0022034515573272
- [2] Zero, D. T., Fontana, M., Martinez-Mier, E. A., Ferreira-Zandona, A., Ando, M., Gonzalez-Cabezas, C., & Bayne, S. (2009). The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc*, 140 Suppl 1, 25S-34S.
- [3] Surmont, P. A., & Martens, L. C. (1989). Root surface caries: an update. *Clin Prev Dent*, 11(3), 14-20.
- [4] Takahashi, N., & Nyvad, B. (2016). Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. *Caries Res*, 50(4), 422-431. doi: 10.1159/000447309
- [5] Becker, M. R., Paster, B. J., Leys, E. J., Moeschberger, M. L., Kenyon, S. G., Galvin, J. L., ... Griffen, A. L. (2002). Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*, 40(3), 1001-1009.
- [6] Lou, Y. L., Botelho, M. G., & Darvell, B. W. (2011). Reaction of silver diamine fluoride with hydroxyapatite and protein. *J Dent*, 39(9), 612-618. doi: 10.1016/j.jdent.2011.06.008
- [7] Hoppenbrouwers, P. M., Driessens, F. C., & Borggrevén, J. M. (1987). The mineral solubility of human tooth roots. *Arch Oral Biol*, 32(5), 319-322.
- [8] The 8<sup>th</sup> National Oral Health Report B.C. 2017. (2018). Bureau of Dental Health. Department of Health, Ministry of Public Health. (in Thai)

- [9] Sheiham, A. (2006). Dental caries affects body weight, growth and quality of life in pre-school children. *Br Dent J*, 201(10), 625-626. doi: 10.1038/sj.bdj.4814259
- [10] Schwendicke, F., Frencken, J. E., Bjorndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., . . . Innes, N. P. T. (2016). Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. *Adv Dent Res*, 28(2), 58-67. doi: 10.1177/0022034516639271
- [11] Yamaka, R., Nishino, M., Yoshida, S., & Yokomizo, I. (1972). Diammine Silver Fluoride and its Clinical Application *The Journal of Osaka University Dental School*, 12, 1-20.
- [12] Crystal, YO., Marghalani, AA., & Ureles, S.D. (2017). Use of silver diamine fluoride for dental caries management in children and adolescents, including those with special health care needs. *Pediatr Dent*, 39(5), E135-E145.
- [13] Chu, C. H., & Lo, E. C. (2008). Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent*, 6(4), 315-321.
- [14] Horst, J. A., Elleniotis, H., & Milgrom, P. L. (2016). UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. *J Calif Dent Assoc*, 44(1), 16-28.
- [15] Fung, M. H. T., Duangthip, D., Wong, M. C. M., Lo, E. C. M., & Chu, C. H. (2016). Arresting Dentine Caries with Different Concentration and Periodicity of Silver Diamine Fluoride. *JDR Clin Trans Res*, 1(2), 143-152. doi: 10.1177/2380084416649150
- [16] Lo, E. C., Chu, C. H., & Lin, H. C. (2001). A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. *J Dent Res*, 80(12), 2071-2074. doi: 10.1177/00220345010800120901
- [17] Llodra, J. C., Rodriguez, A., Ferrer, B., Menardia, V., Ramos, T., & Morato, M. (2005). Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *J Dent Res*, 84(8), 721-724.
- [18] World Health Organization. (1996). Silver in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. 2<sup>nd</sup> Edition. Geneva, Switzerland.
- [19] Whitford, G. M. (1987). Fluoride in dental products: safety considerations. *J Dent Res*, 66(5), 1056-1060. doi: 10.1177/00220345870660051501
- [20] Mei, M. L., Ito, L., Cao, Y., Li, Q. L., Lo, E. C., & Chu, C. H. (2013). Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *J Dent*, 41(9), 809-817. doi: 10.1016/j.jdent.2013.06.009
- [21] Mei, M. L., Li, Q. L., Chu, C. H., Lo, E. C., & Samaranayake, L. P. (2013). Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 12, 4. doi: 10.1186/1476-0711-12-4
- [22] Zou, W., Hunter, N., & Swain, M. V. (2011). Application of polychromatic microCT for mineral density determination. *J Dent Res*, 90(1), 18-30. doi: 10.1177/0022034510378429
- [23] Mei, M. L., Li, Q. L., Chu, C. H., Yiu, C. K., & Lo, E. C. (2012). The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dent Mater*, 28(8), 903-908. doi: 10.1016/j.dental.2012.04.011
- [24] Mei, M. L., Ito, L., Cao, Y., Lo, E. C., Li, Q. L., & Chu, C. H. (2014). An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *J Dent*, 42(4), 395-402. doi: 10.1016/j.jdent.2013.12.007