ว ทันต จุฬาฯ 2551;31:385-98
CU Dent J. 2008;31:385-98

บทวิทยาการ
Original Article

ผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ : การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

พิมพิไล ลิ้มสมวงศ์ ท.บ.[1]
วัชราภรณ์ ทัศจันทร์ ท.บ., Cert. of Fellowship in Pedodontics, อ.ท. (ทันตกรรมสำหรับเด็ก) [2]
พัชรา พิพัฒนโกวิท ท.บ., วท.ม. (จุลชีววิทยาทางการแพทย์) [3]

[1] นิสิตปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2] ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

วัสดุและวิธีการ สเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ATCC 25175 แลกโตเบซิลลัสเคซีไอ IFO 3533 และ สเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส OMZ 176a ได้ถูกนำมาทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด และยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนอีก 6 ชนิด โดยนำยาสีฟันมาวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนโดยฟลูออไรด์อิเล็กโทรดและนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธีการแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น จากนั้นนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปอิมเมจโปรพลัสรุ่น 4.5 และนำมาคำนวณหาพื้นที่และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปเอสพีเอสเอสรุ่น 13 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียภายในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในทางตรงกันข้าม พบว่ากลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแตกต่างจากยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

สรุป ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน และปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

(ว ทันต จุฬาฯ 2551;31:385-98)

คำสำคัญ: *การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย; แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุ; ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์*

บทนำ

โรคฟันผุเป็นปัญหาทันตสุขภาพของเด็กทุกกลุ่มอายุซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี[1] และเป็นโรคติดเชื้อที่สามารถติดต่อได้ เกิดขึ้นโดยการทำลายโครงสร้างของฟันจากแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างกรดในสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ Loesche[2] ได้เปลี่ยนแนวความคิด จากการให้ความสำคัญของสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียชนิดไม่จำเพาะที่ทำให้เกิดโรค (non specific plaque hypothesis) มาเป็นสมมติฐานของเชื้อแบคทีเรียชนิดจำเพาะที่ทำให้เกิดโรค (specific plaque hypothesis) โดยนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงแนวคิดในการรักษาจากการเน้นการรักษาด้วยการบูรณะรอยโรค (surgical treatment model) มาเป็นการใช้สารเคมีร่วมในการรักษาโรค (medical paradigm of treatment) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเชื้อจุลชีพ โดยรักษาผู้ป่วยตามระดับความเสี่ยงของการเกิดโรค

ฟลูออไรด์เป็นที่ยอมรับว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุและแนะนำให้ใช้อย่างแพร่หลาย นอกจากกลไกในการลดการละลายของเคลือบฟันและส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุแล้ว ฟลูออไรด์ยังมีผลรบกวนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียด้วย เช่น การยับยั้งขบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis pathway) ยับยั้งกลูโคสเข้าเซลล์แบคทีเรีย ขัดขวางการสร้างกลูโคสซิกฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) ทำให้ไม่สามารถสะสมเป็นอินทราพอลิแซ็กคาไรด์ (intrapolysaccharide) ได้ ยับยั้งการสร้างกรดของแบคทีเรียและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย[3] โดยพบว่าโซเดียมฟลูออไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ *(Streptococcus mutans)* ที่ความเข้มข้น 300-600 ส่วนในล้านส่วน[4] และสแตนนัสฟลูออไรด์สามารถทำลายเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ที่ความเข้มข้น 600 ส่วนในล้านส่วน[5]

การแปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์เป็นวิธีการที่องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้เป็นกลวิธีหลัก ในการป้องกันฟันผุในทุกกลุ่มอายุ[6] ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถใช้ในเด็กอายุ 2-6 ปีได้ แต่จำเป็นต้องจำกัดปริมาณการใช้อย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้เกินระดับฟลูออไรด์ที่เด็กควรได้รับในแต่ละวัน (optimum fluoride level) เนื่องด้วยการใช้ปริมาณฟลูออไรด์ที่มากเกินไประหว่างที่มีการสร้างเคลือบฟันโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงเวลา 18-24 เดือนจะมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดฟันตกกระโดยเฉพาะบริเวณฟันหน้า[7,8]

การศึกษาผลของฟลูออไรด์ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียยังมีจำกัด เช่น การศึกษาของ Modesto, Lima และ Uzeda[9] ซึ่งศึกษาผลการยับยั้งแบคทีเรียบนแผ่นชีวภาพ (biofilm) ของยาสีฟันสำหรับเด็ก พบว่ายาสีฟันซึ่งมีส่วนผสมของฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับยาสีฟันที่มีส่วนประกอบของแลกโตเพอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในน้ำลาย แลกโตเฟอร์ริน (lactoferrin) และส่วนผสมของสมุนไพร คาเลนดูลา (calendura) แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน

ยาสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายภายในประเทศไทย มีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในระดับ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบว่ายาสีฟันสำหรับเด็กที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้โรคฟันผุได้แตกต่างกันหรือไม่

วัสดุและวิธีการ

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ ได้แก่ แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ดังต่อไปนี้ สเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ATCC 25175 สเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส *(Streptococcus sobrinus)* OMZ 176a และ แลกโตเบซิลลัสเคซีไอ *(Lactobacillus casei)* IFO 3533

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย (Inoculum)

นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่จะใช้ทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ไปเก็บในกลีเซอรีน (glycerine) ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 เก็บในหลอดพลาสติกเอฟเพนดอฟ (eppendorf®, USA) โดยทำเก็บไว้ จำนวน 5 หลอดที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดลองจึงนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นชนิดผสมเลือด (Columbia blood agar, Difco®, USA) และอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลวทริปติกซอยบรอท (triptic soy broth, Difco®, USA) สลับกัน 3 รุ่นเพื่อให้เชื้อมีความสมบูรณ์สำหรับใช้ในการทดลอง จากนั้นนำเชื้อที่มีลักษณะเป็นโคโลนีเดี่ยวจำนวน 3-4 โคโลนี จากจานเพาะเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติก

ซอยบรอท ปริมาณ 30 มิลลิลิตรในคนโทเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตรและนำไปอบภายในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีก๊าซคาร์บอน-ไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากันในการทดลองแต่ละครั้งโดยใช้วิธีนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียโดยการเจือจาง (dilution plate count) ให้มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 1-1.5 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

การเตรียมยาสีฟัน

ยาสีฟันที่นำมาศึกษา ได้แก่ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย จำนวน 12 ตัวอย่าง ได้แก่ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ตัวอย่าง ดังนี้ คอลเกตโปเกมอนชนิดเจล เซ็นต์แอนดรูว์ชนิดเจล เซ็นต์แอนดรูว์ชนิดครีม ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจล โคโดโม-ไลอ้อนชนิดครีม และโคโดโมไลอ้อนชนิดเจล และ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ตัวอย่าง ดังนี้ ฟลูโอคารีลออริจินัลชนิดครีม คอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีม ออรัล-บี ทูธแอนด์กัมแคร์ชนิดครีม ดาร์ลี่ชนิดครีม คิดดี-โอชนิดเจล และ ใกล้ชิดมิลค์แคลเซียมชนิดครีม

วิธีการหาปริมาณฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำได้ในยาสีฟัน

ชั่งยาสีฟันตัวอย่าง 1 กรัมในหลอดพลาสติกให้ได้มวลที่แน่นอน เติมน้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อแยกตะกอนด้วยอัตราเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที และใช้ปิเปต (pipette) ดูดสารละลายส่วนใสมา 4 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ไอออนนิกสเตร็งค์ (total ionic strength adjustment buffer, TISAB III) 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำมาวัดฟลูออไรด์อิออนโดยใช้ฟลูออไรด์อิเล็กโทรด (Orion ionplus® Thermo scientific Inc, USA) วัดทั้งหมดสามครั้งและนำมาหาค่าเฉลี่ย

การทดสอบความไวของยาสีฟันแต่ละชนิดต่อเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่น (Brian heart infusion Britania®, Argentina) และปรับค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 7.3 และตวงให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อขนาด 10 เซนติเมตรเพื่อให้ได้วุ้นหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้ปรับความขุ่นจนได้ปริมาณของเชื้อ 1-1.5 x 10^6 คอโลนีต่อมิลลิลิตรมาเขย่าให้เข้ากันและเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 100 ไมโครลิตร โดยใส่ลงบนกลางผิววุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลกวาดให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอเต็มพื้นที่จานเพาะเชื้อ วางทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นใช้เครื่องมือเจาะชิ้นเนื้อ (biopsy punch) เจาะรูอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรจำนวน 4 ตำแหน่งในแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยกำหนด 3 ตำแหน่งให้มีระยะห่างเท่ากัน และอีก 1 ตำแหน่งสำหรับใส่สารควบคุมลบ (negative control) กำหนดตำแหน่งไว้ขอบจานเพาะเชื้อ นำยาสีฟันที่เตรียมซึ่งแยกเป็นส่วนของเหลวใส่ลงในรูของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นที่เจาะไว้ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม โดยหลุมตรงขอบจานใส่น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเป็นสารควบคุมลบ และนำไปเพาะเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำออกมาถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิตัล (digital camera) และวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ที่ไม่มีเชื้อขึ้น (inhibition zone) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปอิมเมจโปรพลัสรุ่น 4.5 (Image Pro Plus®) ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง

การรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

วัดและบันทึกค่าขนาดความกว้างเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ที่ไม่มีเชื้อขึ้นเป็นมิลลิเมตรในระบบมาตราเมตริก โดยผู้วิจัยคนเดียวเป็นผู้ทำการวัดและบันทึกตลอดการวิจัย โดยมีการทดสอบความเที่ยงของการวัดโดยการวัดซ้ำ 2 ครั้งในเวลาที่ต่างกัน นำมาทดสอบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยด้วยสถิติทดสอบทีแบบจับคู่ (Paired t-test) จากนั้นนำมาคำนวณเป็นพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นโดยไม่นับรวมบริเวณที่เจาะรู วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ทดสอบความแตกต่างของยาสีฟัน แต่ละชนิดภายในกลุ่มด้วยการทดสอบไม่อิงพารามิเตอร์ (Non-parametric test) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นด้วยสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation)

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟัน

ในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนมียาสีฟัน 5 ชนิดที่มีฟลูออไรด์ซึ่งละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมากกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด (ตารางที่ 1) ได้แก่ คอลเกต โปเกมอนชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 96.91 เซ็นต์แอนดรูว์ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 91.95 เซ็นต์แอนดรูว์ชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 91.77 โคโดโมไลอ้อนชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 86.02 โคโดโมไลอ้อนชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 93.94 และมีเพียง 1 ชนิดที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 48.30 ส่วนในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนมียาสีฟันเพียง 3 ชนิดที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมากกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด (ตารางที่ 1) ได้แก่ ออรัล-บี ทูธแอนด์กัมแคร์มีค่าเท่ากับร้อยละ 87.11 คิดดี-โอชนิดเจลมีค่าเท่ากับร้อยละ 93.14 และ ไกล้ซิดชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 91.14 และ มี 3 ชนิดที่มีฟลูออไรด์อิออนที่ละลายน้ำได้น้อยกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ ฟลูออคารีลออริจินัลชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 73.01 คอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 19.66 และ ดาร์ลี่ชนิดครีมมีค่าเท่ากับร้อยละ 22.86

ตารางที่ 1 ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออน (ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร)

Table 1 Quantity of soluble fluoride ions in fluoride dentifrices (1 gram fluoride dentifrice in 10 milliliter distilled water)

	Dentifrices	Fluoride (percent)	Fluoride ion	Fluoride ion (percent)
500 ppm fluoride dentifrices				
1.	Colgate pokemon gel	0.11% NaF	48.46 ± 1.15	96.91
2.	St. Andrew gel	0.38% MFP	45.98 ± 0.26	91.95
3.	St. Andrew paste	0.38% MFP	45.89 ± 1.15	91.77
4.	Fluocaril kids 2-6 gel	0.19% MFP + 0.5525% NaF	24.15 ± 1.51	48.30
5.	Kodomo paste	0.38% MFP	43.01 ± 6.93	86.02
6.	Kodomo gel	0.11% NaF	46.97 ± 2.08	93.94
1000 ppm fluoride dentifrices				
7.	Fluocaril original paste	0.021% NaF + 0.683% MFP	73.01 ± 2.46	73.01
8.	Colgate paste	0.76% MFP	19.66 ± 2.18	19.66
9.	Oral B	0.2% NaF	87.11 ± 0.40	87.11
10.	Darlie paste	0.76% MFP	22.86 ± 7.13	22.86
11.	Kiddy- O gel	0.22% NaF	93.14 ± 0.75	93.14
12.	Close up paste	0.22% NaF	91.14 ± 2.64	91.14
Positive control				
13.	50 ppm NaF solution	0.01% NaF	42.07 ± 2.95	84.13
14.	100 ppm NaF solution	0.02% NaF	99.63 ± 0.29	99.63

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังรูปที่ 1

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน

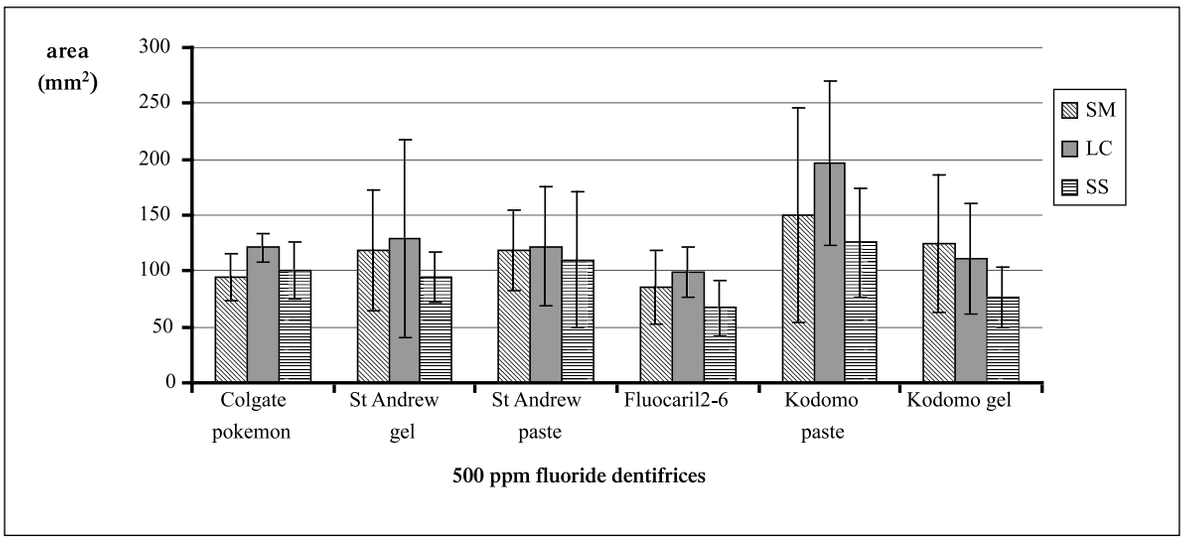
เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดพบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือ ออรัล- บีทูธแอนด์กัมแคร์ (429.91 ± 79.06) และใกล้ชิดชนิดครีม (429.53 ± 40.37) ยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีม (161.67 ± 120.61) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแลกโตเบซิลลัสเคซิไอของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิดพบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือ ออรัล- บีทูธแอนด์กัมแคร์ (435.07 ± 15.26) และ ใกล้ชิดชนิดครีม (504.53 ± 88.16) ยับยั้งเชื้อแลกโตเบซิลลัส เคซิไอ ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีม (192.23 ± 37.44) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัสของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ตัวอย่าง พบว่ามี 2 คู่ แตกต่างกัน คือ ออรัล- บีทูธแอนด์กัมแคร์ (419.88 ± 27.89) ยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส ได้มากกว่าคอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีม (199.27 ± 80.85) และ ดาร์ลี่ชนิดครีม (207.06 ± 79.81) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 2

รูปที่ 1 การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด

Fig. 1 Comparison of three strains bacteria inhibition effect by six samples of 500 ppm fluoride dentifrices.



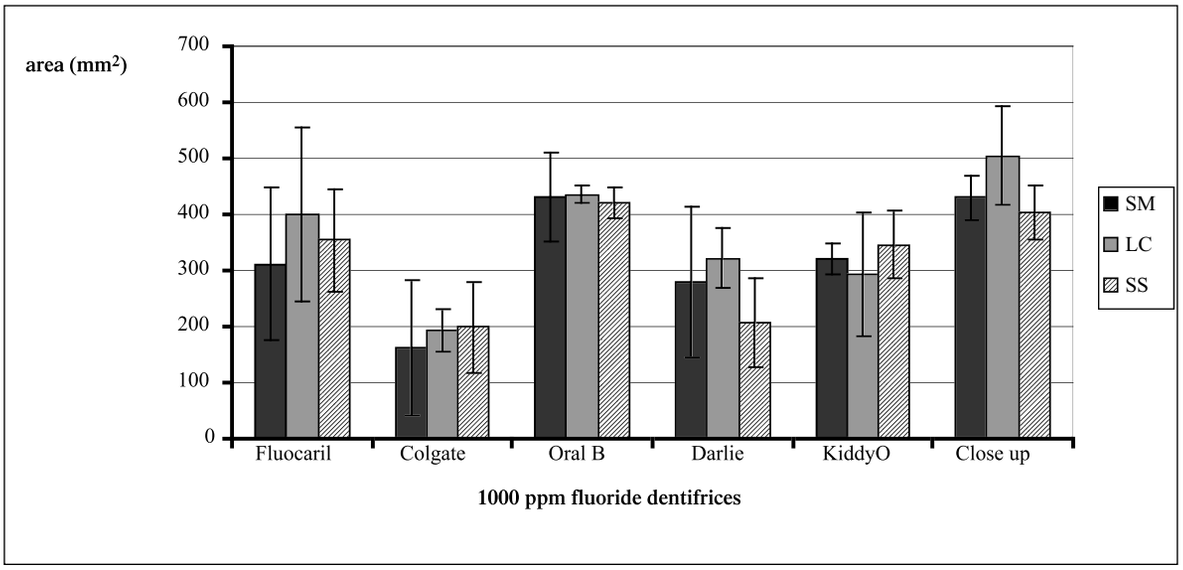
SM = *Streptococcus mutans*

LC = *Lactobacillus casei*

SS = *Streptococcus sobrinus*

รูปที่ 2 การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ของกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด

Fig. 2 Comparison of three strains bacteria inhibition effect by six samples of 1000 ppm fluoride dentifrices.



SM = *Streptococcus mutans*

LC = *Lactobacillus casei*

SS = *Streptococcus sobrinus*

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ1000 ส่วนในล้านส่วน

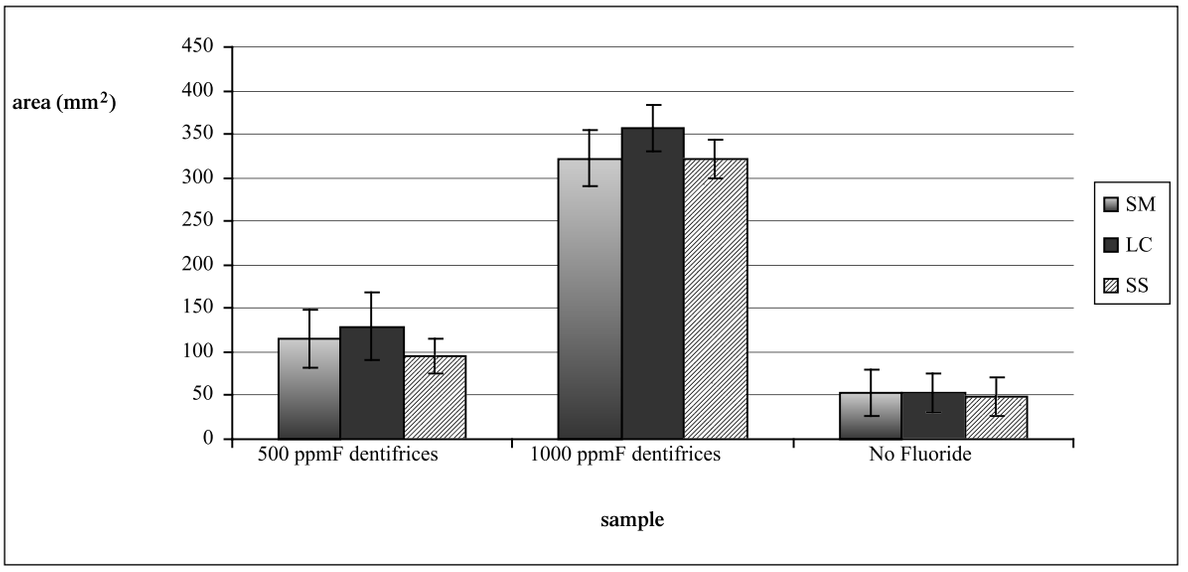
คณะผู้วิจัยนำค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด พบว่า ค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 3

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน และ1000 ส่วนในล้านส่วน เปรียบเทียบกับสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน และ100 ส่วนในล้านส่วน

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วนและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 50 ส่วนในล้านส่วน และ ระหว่างยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วนและสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ 100 ส่วนในล้านส่วน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์

รูปที่ 3 การเปรียบเทียบพื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ เมื่อทดสอบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ชนิด และ ยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์

Fig. 3 Comparison of mean three strains bacteria inhibition area by six samples of 500 ppm fluoride dentifrices, six samples of 1000 ppm fluoride dentifrices and no fluoride containing dentifrice.



SM = *Streptococcus mutans*

LC = *Lactobacillus casei*

SS = *Streptococcus sobrinus*

ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 1000 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด และ ยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ พบว่าค่าเฉลี่ยของพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน และยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว

ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันและการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์กับพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 เมื่อทดสอบด้วยเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัส มิวแทนส์ แลกโตเบซิลลัสเคซิไอ และสเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส โดยมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.816 0.765 และ 0.823 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4

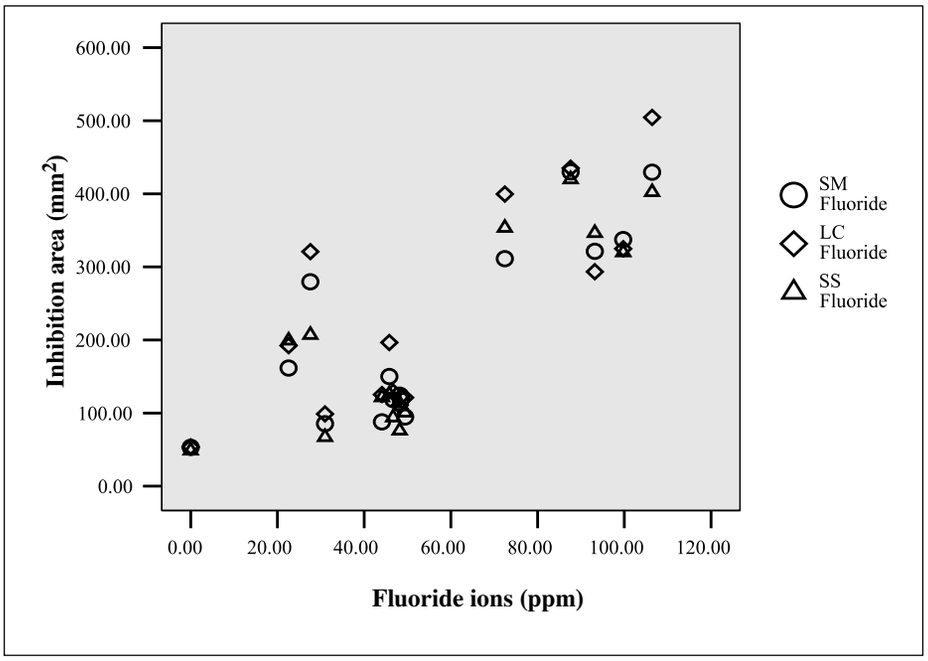
ตารางที่ 2 พื้นที่เฉลี่ยบริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้น (มิลลิเมตร^2) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เมื่อทดสอบด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์

Table 2 Mean inhibition area (mm^2) and standard deviation when test with fluoride dentifrices

dentifrices	*S. mutans*	*L. casei*	*S. sobrinus*
500 ppm fluoride dentifrices			
1. Colgate pokemon gel	94.64 ± 21.09	121.21 ± 12.92	100.77 ± 25.53
2. St Andrew gel	118.37 ± 54.14	128.78 ± 88.64	94.02 ± 22.47
3. St Andrew paste	118.22 ± 36.12	122.02 ± 53.24	109.84 ± 61.06
4. Fluocaril kids 2-6 gel	85.53 ± 32.94	98.80 ± 21.96	67.16 ± 24.59
5. Kodomo paste	150.00 ± 96.24	196.56 ± 73.08	125.86 ± 48.67
6. Kodomo gel	124.44 ± 62.09	110.63 ± 49.53	76.10 ± 26.87
Mean	115.20 ± 33.22	129.67 ± 39.02	95.62 ± 19.72
1000 ppm fluoride dentifrices			
7. Fluocaril original paste	311.23 ±136.16	399.62 ±156.32	353.59 ± 91.86
8. Colgate paste	161.67 ±120.61	192.23 ± 37.44	199.27 ± 80.85
9. Oral B	429.91 ± 79.06	435.07 ± 15.26	419.88 ± 27.89
10. Darlie paste	279.55 ±134.12	320.89 ± 53.60	207.06 ± 79.81
11. Kiddy- O gel	321.29 ± 28.51	293.43 ±109.67	346.43 ± 60.16
12. Close up paste	429.53 ± 40.37	504.53 ± 88.16	402.31 ± 48.65
Mean	322.20 ± 32.77	357.63 ± 26.85	321.42 ± 23.13
Positive control			
13. 50 ppm NaF solution	87.96 ± 38.13	125.38 ± 23.96	121.61 ± 13.56
14. 100 ppm NaF solution	132.17 ± 39.21	324.88 ± 88.00	129.46 ±103.10
15. No fluoride containing dentifrice	53.13 ± 27.49	53.73 ± 22.39	48.77 ± 22.56

รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลูออไรด์อิออนและพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ แลกโตเบซิลลัส เคซิไอ และ สเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส

Fig. 4 The relationship between the quantity of fluoride ions and inhibition area of *Streptococcus mutans, Lactobacillus casei* and *Streptococcus sobrinus*



SM = *Streptococcus mutans*

LC = *Lactobacillus casei*

SS = *Streptococcus sobrinus*

การทดสอบความเที่ยงของการวัด

ผลการทดสอบความเที่ยงของการวัด พบว่า ค่าที่วัดได้ทั้ง 2 ครั้งเมื่อนำมาทดสอบด้วยสถิติทดสอบทีแบบจับคู่ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.05 มีค่าเท่ากับ 0.3 ซึ่งแสดงถึงความเที่ยงที่ยอมรับได้ของการวัด

วิจารณ์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วน โดยนำเชื้อที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดฟันผุสายพันธุ์มาตรฐานมาใช้ในการศึกษา คณะผู้วิจัยได้เลือกยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย 12 ตัวอย่าง ได้แก่ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 6 ตัวอย่าง และยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 6 ตัวอย่างซึ่งหลีกเลี่ยงส่วนประกอบอื่นที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ เช่น ไตรโคลซาน โดยนำยาสีฟันที่ใช้ทดสอบ 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรทำให้มีความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในยาสีฟันเท่ากับ 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องด้วยการใช้ยาสีฟันในเด็ก 2-6 ปีจะใช้ปริมาณเพียง 0.5 กรัมต่อการแปรง 1 ครั้งและเมื่อยาสีฟันเข้าสู่ช่องปากจะเจือจางเหลือเพียงประมาณร้อยละ 22 ของความเข้มข้นเดิม หรือเจือจางลงประมาณ 5 เท่า[10,11] ดังนั้นจึงทำให้ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและ 1000 ส่วนในล้านส่วนเหลือประมาณ 50 ส่วนในล้านส่วนและ 100 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่สามารถยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกไคในช่องปากได้ในห้องปฏิบัติการ

คือความเข้มข้นระหว่าง 20-300 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะขึ้นอยู่กับสารประกอบฟลูออไรด์ที่นำมาทดสอบ ระดับความเป็นกรด-เบส และสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาทดสอบ[12,13]

เนื่องจากประสิทธิภาพการป้องกันฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์นั้นขึ้นกับการที่ฟลูออไรด์สามารถละลายน้ำออกมาอยู่ในรูปฟลูออไรด์ อิออนและสัมผัสอยู่ในช่องปากอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นผู้วิจัยจึงวิเคราะห์หาฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนเพื่อเป็นข้อมูลพิจารณาความสัมพันธ์กับผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ผลการวิเคราะห์หาฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ พบว่ามี 4 ใน 12 ชนิดที่มีค่าฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 80 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด ได้แก่ ฟลูออคารีลออริจินัลชนิดครีม คอลเกตรสยอดนิยมชนิดครีม ดาร์ลี่ชนิดครีม และ ฟลูโอคารีลคิดส์ 2-6 ชนิดเจลโดยเป็นยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน 1 ชนิด และยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน 3 ชนิด ซึ่งมีผลเช่นเดียวกับการศึกษาในปี 2005 ที่รายงานว่าปริมาณฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันที่มีจำหน่ายในสาธารณรัฐประชาชนจีน พม่า เวียดนาม เนปาล ฟิลิปปินส์ ไซเรีย และโตโก นั้น มีตัวอย่างยาสีฟันร้อยละ 50 ที่มีฟลูออไรด์อิออนน้อยกว่าร้อยละ 78 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด[14] และ การศึกษาของ Bruun และคณะ[11] ที่วิเคราะห์หาฟลูออไรด์อิออนในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟตได้เพียงร้อยละ 3 ในขณะที่วัดในยาสีฟันที่ผสมฟลูออไรด์ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ได้ร้อยละ 96 และการศึกษาของ Hashizume และคณะ[15] รายงานว่าค่าฟลูออไรด์ในรูปฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะมีค่าประมาณร้อยละ 13-20 นอกจากนั้นจะอยู่ในรูปของเมตาฟลูออโรฟอสเฟต และเกลือที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อพิจารณาถึงสารประกอบฟลูออไรด์ที่มีในยาสีฟันทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวนี้ พบว่าเป็นฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตหรืออยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ร้อยละ 50 รวมกับโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตร้อยละ 50 ซึ่งผลการวัดค่าฟลูออไรด์อิออนของยาสีฟันดังกล่าวอยู่ระหว่างร้อยละ 22.57 - 72.45 ส่วนยาสีฟันที่อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ทุกชนิดนั้น วัดค่าฟลูออไรด์อิออนได้มากกว่าร้อยละ 80 ทั้งหมด ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารประกอบโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตสามารถละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้น้อยกว่าสารประกอบโซเดียมฟลูอไรด์ เนื่องจากสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ เมื่อละลายน้ำแล้วจะให้ฟลูออไรด์อิออนแตกตัวออกมาในสารละลายอย่างรวดเร็วและสามารถวัดได้ด้วยอิเล็กโทรดโดยตรง ส่วนสารประกอบอื่นได้แก่ โมโนฟลูออโรฟอสเฟต เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวอยู่ในรูปฟลูออไรด์อิออน และ เมตาฟลูออโรฟอสเฟตซึ่งฟลูออไรด์ในรูปสารประกอบดังกล่าวไม่สามารถวัดออกมาโดยการละลายน้ำเพียงอย่างเดียว ต้องใช้วิธีอื่น ๆ เช่น การสกัดโดยใช้กรดเพอร์คลอริก (perchloric acid) เพื่อเกิดไฮโดรลิซิสเป็นฟลูออไรด์อิออน หรือสกัดโดยใช้เฮกซะเมทิลไดไซโลเซน (hexamethyldisiloxane)[16,17] การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีสารประกอบฟลูออไรด์เป็นโซเดียมฟลูออไรด์และโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตในปัจจุบันนี้ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน บางการศึกษารายงานว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน แต่ยังมีการศึกษาที่รายงานว่าโซเดียมฟลูออไรด์มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดฟันผุมากกว่า[18-20] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการรับฟลูออไรด์เข้าสู่ผิวเคลือบฟัน (enamel fluoride uptake) จะมีค่าสูงที่สุดเมื่ออยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมฟลูออไรด์ รองลงมาคือ โซเดียมฟลูออไรด์รวมกับโมโนฟลูออโรฟอสเฟต และโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะมีค่าต่ำที่สุด[21] และการศึกษาทางคลินิกของ Duckworth และคณะ[20] พบว่าปริมาณฟลูออไรด์อิออนในคราบจุลินทรีย์ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในรูปของโซเดียมฟลูออไรด์มากกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในรูปของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าฟลูออไรด์ที่ตรวจพบในน้ำลายหลังการบ้วนปากด้วยสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์มีค่ามากกว่าที่พบในน้ำลายของตัวอย่างที่บ้วนด้วยสารละลายโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตที่มีฟลูออไรด์ความเข้มข้นเท่ากัน ถึง 13 เท่า[22]

การศึกษานี้พบว่าปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออน และความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์โดยพิจารณาจากพื้นที่บริเวณที่ไม่มีเชื้อขึ้นนั้นมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่ายาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้ปริมาณมากจะมีผลในการยับยั้งเชื้อได้มากด้วย อาจเนื่องมาจากกลไกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟลูออไรด์นั้นเกิดขึ้นเมื่อฟลูออไรด์เข้าสู่แบคทีเรีย ซึ่งฟลูออไรด์จะเข้าสู่แบคทีเรียในรูปไฮโดรเจนฟลูออไรด์ซึ่งเกิดจากฟลูออไรด์อิออนโดยปฏิกิริยา $H^+ + F^- <---> HF$ [3,23,24] ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของแบคทีเรียนี้ ฟลูออไรด์อิออนจะจับกับเอนไซม์ของแบคทีเรียโดยตรง กลไกเหล่านี้อาศัยฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปของฟลูออไรด์อิออน

การศึกษาผลของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย นี้พบว่า ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน ทั้ง 6 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุทั้งสามสายพันธุ์ได้ไม่แตกต่างกันภายในกลุ่ม ($p > 0.05$) ส่วนผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันที่ผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน ทั้ง 6 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกันภายในกลุ่ม ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนมีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนได้ในปริมาณที่แตกต่างกันไปโดยมีถึง 3 ใน 6 ชนิด ที่มีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้ออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนได้น้อยกว่าร้อยละ 80 ของฟลูออไรด์ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนและยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้มากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การศึกษานี้นำสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วนและ 100 ส่วนในล้านส่วนมาเป็นสารควบคุมเชิงบวกด้วย เนื่องจากสารละลายดังกล่าวไม่มีส่วนผสมของสารเสริมอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับยาสีฟันที่นำมาทดสอบพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ส่วนยาสีฟันที่ไม่ผสมฟลูออไรด์ก็สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์นั้นมีส่วนประกอบอื่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่นโซเดียมลอริลซัลเฟต (sodium laurylsulphate) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดฟองในยาสีฟันนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้าง พอลิ-แซกคาไรด์ของแบคทีเรียนอกจากนี้ยังมีสารกันเสียอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเช่น เมทิลพาราเบน (methyl paraben) เป็นต้น[25] แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ ทั้ง 500 และ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้มากกว่า ($p < 0.05$) จึงอาจกล่าวได้ว่าผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารอื่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในยาสีฟันไม่ได้เป็นตัวหลักในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมากไปกว่าฟลูออไรด์

เป็นที่น่าสังเกตในการทดลองนี้ว่ายาสีฟัน 500 ส่วนในล้านส่วนที่มีฟลูออไรด์อยู่ในรูปสารประกอบโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต คือ เซ็นต์แอนดรูว์ชนิดครีมและชนิดเจล โคโดโมไลออนชนิดครีม มีฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนได้มากกว่าร้อยละ 80 และสามารถยับยั้งเชื้อได้มากเท่ากับยาสีฟันชนิดอื่นๆ ในกลุ่มยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน ผลการยับยั้งเชื้อที่มากขึ้นอาจเป็นเพราะยาสีฟันทั้งสามชนิดนี้มีส่วนประกอบของน้ำตาลไซลิทอล โดยเซ็นต์แอนดรูว์ ชนิดครีมและชนิดเจลมีส่วนประกอบของน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักโคโดโมไลออนชนิดครีม มีส่วนประกอบของน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าน้ำตาลไซลิทอล 2.8 โมลหรือร้อยละ 35 โดยน้ำหนักสามารถลดอัตราการสร้างกรดของแบคทีเรีย[26] และการศึกษาที่พบว่าน้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 10-15 โดยน้ำหนักสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์และ สเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัสในจานเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ[27] ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อจากน้ำตาลไซลิทอลที่มีปริมาณเท่ากับส่วนประกอบที่มีในยาสีฟันที่จำหน่ายในประเทศไทยต่อไป

เมื่อพิจารณาถึงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Modesto และคณะ ซึ่งพบว่าเมื่อเปรียบเทียบเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ เชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส และ แลกโตเบซิลลัสเคซิไอ ถูกยับยั้งด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1100 ส่วนในล้านส่วน น้อยกว่าสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ อาจเนื่องมาจากการทดลองนี้ใช้แบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ที่ปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากันโดยที่ความขุ่นของเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ไม่เท่ากัน ซึ่งไม่ได้ใช้วิธีการเทียบกับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากันโดยใช้สารสเกลของแมคฟาแลนด์[9]

ผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงข้อสรุปในเบื้องต้นเท่านั้นว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกับยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วน เนื่องด้วยมีข้อจำกัดจากการทดลองในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งไม่สามารถเลียนแบบสภาวะในช่องปากได้ เช่น ฟลูออไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบโมโนฟลูออโรฟอสเฟตเมื่ออยู่ในช่องปากเป็นฟลูออไรด์ที่สามารถละลายน้ำอยู่ในรูปของเมตาฟลูออโรฟอสเฟตจะสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสเกิดเป็นฟลูออไรด์อิออนในช่องปากและออโทฟอสเฟต (orthophosphate) โดยเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase)ของแบคทีเรีย[14] การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสนี้ขึ้นกับระดับความเป็นกรด-เบสด้วย[28] ซึ่ง

ฟลูออไรด์อิออนดังกล่าวอาจมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไปได้ นอกจากนี้แบคทีเรียที่อยู่ในช่องปากจะอยู่รวมกันเป็นแผ่นชีวภาพซึ่งสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่จำกัดได้มากกว่าและทนต่อสารต้านแบคทีเรียในความเข้มข้นที่สูงกว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงไม่สามารถนำผลการศึกษาครั้งนี้ไปสรุปขยายผลทางคลินิกได้โดยตรง

จากผลการศึกษานี้พบว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1,000 ส่วนในล้านส่วนให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุได้มากกว่ายาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วน จึงอาจนำไปเป็นข้อพิจารณาในการเลือกยาสีฟันสำหรับเด็กก่อนวัยเรียนโดยแนะนำให้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนในรายที่มีการประเมินว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงอันเนื่องมาจากปัจจัยของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งตรงกับคำแนะนำของสมาคมทันตแพทย์สำหรับเด็กแห่งสหราชอาณาจักร[29] ซึ่งแนะนำเด็กอายุต่ำกว่า 6 ปีที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูงให้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 1000 ส่วนในล้านส่วน ทั้งนี้ควรให้คำแนะนำอย่างระมัดระวังเกี่ยวกับปริมาณยาสีฟันที่ใช้ โดยผู้ปกครองต้องเข้าใจและสามารถป้องกันความเสี่ยงที่จะได้รับฟลูออไรด์เกินหากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม และควรมีการศึกษาต่อไปในระดับคลินิกถึงประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุในยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ และฟลูออไรด์เฉพาะที่ในระดับความเข้มข้นของฟลูออไรด์ต่าง ๆ กันต่อไป และจากการศึกษานี้พบว่าปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่ละลายน้ำเป็นฟลูออไรด์อิออนมีความสัมพันธ์ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อการละลายน้ำออกมาเป็นฟลูออไรด์อิออนจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไปเช่นกัน

สรุป

ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1000 ส่วนในล้านส่วนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ได้มากกว่า ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 500 ส่วนในล้านส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ Professor Motoyuki Kasai, Hiroshima University ที่กรุณาเอื้อเฟื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน แลกโตเบซิลลัสเคซิไอ IFO 3533 และ สเตร็ปโตค็อกคัสซอบรินัส OMZ 176a อาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาทางสถิติ ภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาเอื้อเฟื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน สเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ATCC 25175 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัย ภาควิชาเภสัชวิทยาสำหรับยาสีฟันสูตรมาตรฐานที่ไม่มีฟลูออไรด์ และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Dental Health Division, Ministry of public health. 5th Thai National Dental Survey, 1997-1998.
2. Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev. 1976;9:65-107.
3. Hamilton IR. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. J Dent Res. 1990;69(Spec Iss):660-7.
4. Mayhew RR, Brown LR. Comparative effect of SnF_2 , NaF, $SnCl_2$ on the growth of *Streptococcus mutans*. J Dent Res. 1981;60:1809-14.
5. White DJ, Cox ER, Gwynn AV. Effect of a stabilized stannous fluoride dentifrice on plaque acid (toxin) production. J Clin Dent. 1995;6(Spec No):84-8.
6. Petersen PE, Lenon MA. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st Century: the WHO approach. Community Dent Oral Epidemiol. 2004;32:319-21.
7. Beltrán ED, Szpunar SM. Fluoride in toothpastes for children: suggestion for change. Pediatr Dent. 1988;10:185-8.
8. Burt BA. The changing patterns of systemic fluoride intake. J Dent Res. 1992;71:1228-37.
9. Modesto A, Lima KC, de Useda M. Effects of three different infant dentifrices on biofilms and oral microorganisms. J Clin Pediatr Dent. 2000;24:237-43.
10. Duke SA, Forward GC. The conditions occurring *in vivo* when brushing with toothpastes. Br Dent J.

1982;152:52-4.

11. Bruun C, Givskpv H, Thylstrup A. Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. Caries Res. 1984;18:282-8.
12. Brown LR, Handler SF, Horton IM, Streckfuss JL, Dreizen S. Effect of sodium fluoride on the viability and growth of *Streptococcus mutans*. J Dent Res. 1980;59:159-67.
13. Hamilton IR, Bowden GHW. Fluoride effects on oral bacteria. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in dentistry. 3rd ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996:230-51.
14. van Lovren C, Moorer WR, Buijs MJ, van Palenstein Helderman WH. Total and free fluoride in toothpastes from some non-established market economy countries. Caries Res. 2005;39:224-30.
15. Hashizume LN, Oliveiralima YB, Kawaguchi Y, Cury JA. Fluoride availability and stability of Japanese dentifrices. J Oral Sci. 2003;45:193-9.
16. Jantamongkol T, Phromyarat B, Jirungsiwattana R, Noppakun J. Acid diffusion analysis of total fluoride in dentifrice. CU Dent J. 1992;15:27-32.
17. Ministry of Industry. Toothpaste industrial standards. Bangkok: The institute; 2006:6-9.
18. DePaola PF, Soparkar PM, Triol C, Volpe AR, Garcia L, Duffy J, *et al.* The relative anticaries effectiveness of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride as contained in currently available dentifrice formulations. Am J Dent. 1993;6(Spec Iss):S7-S12.
19. Philip JH, Helen VW. Sodium fluoride or sodium monofluorophosphate? A critical review of a meta-analysis on their relative effectiveness in dentifrices. Am J Dent. 1993; 6(Spec Iss):S55-S58.
20. Duckworth RM, Jones Y, Nicholson J, Jacobson AP, Chestnutt IG. Studies on plaque fluoride after use of F- containing dentifrices. Adv Dent Res. 1994;8:202-7.
21. Benjavongkulchai E, Tamsailom S, Schemehorn BR, Stooky GK. *In vitro* study of fluoride bioavailability from dentifrices in Thailand. J Dent Assoc Thai. 2000;50:186-92.
22. Ekstrand J. Fluoride in plaque fluid and saliva after NaF or MFP rinses. Eur J Oral Sci. 1997;105:478-84.
23. Cimasoni G. The inhibition of enolase by fluoride *in vitro*. Caries Res. 1972;6:93-102.
24. Marquis RE. Diminished acid tolerance of plaque bacteria caused by fluoride. J Dent Res. 1990;69 (Spec Iss):672-5.
25. American Dental Association. Accepted dental therapeutics: drugs used in dental practice, including a list of brands accepted by the council on dental therapeutics of the American Dental Association. 39th ed. Chicago:American Dental Association, 1982:322-323.
26. Bradhaw DJ, Marsh PD. Effect of sugar alcohols on the composition and metabolism of a mixed culture of oral bacteria grown in a chemostat. Caries Res. 1994;28:251-6.
27. Roberts MC, Riedy CA, Coldwell SE, Nagahama S, Judge K, Lam M, *et al.* How xylitol-containing products affect cariogenic bacteria. J Am Dent Assoc. 2002;133:435-41.
28. Pearce EI, Dibdin GH. The effect of pH, temperature and plaque thickness on the hydrolysis of monofluorophosphate in experimental dental plaque. Caries Res. 2003;37:178-84.
29. Holt D, Nunn JH, Rock WP, Page J, British Society of Paediatric Dentistry. A policy document on fluoride dietary supplements and fluoride toothpastes for children. Int J Paediatr Dent. 1996;6:139-42.

The effect of 500 and 1000 ppm fluoride dentifrices on growth of cariogenic bacteria: in vitro study

Pimpilai Limsomwong D.D.S [1]
Watcharaporn Tasachan D.D.S., Cert. of Fellowship in Pedodontics, Diplomate, Thai Board of Pediatric Dentistry [2]
Patchara Pipattanagovit D.D.S., M.Sc. (Microbiology) [3]

[1] Graduate Student, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2] Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[3] Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Abstract

Objective The purpose of this study was to compare antimicrobial effect of 500 and 1000 ppm fluoride dentifrices that distributed in Thailand.

Materials and methods Streptococcus mutans (ATCC 25175), Streptococcus sobrinus (OMZ 176a) and Lactobacillus casei (IFO 3533) were involved in this study. Fluoride dentifrices brought from the local market, which six dentifrices were containing 500 ppm fluorides and six dentifrices were containing 1000 ppm fluoride. Supernatants from each were prepared, soluble fluoride ion was analyzed by fluoride electrode, and bring to test against bacteria in agar plates by agar diffusion method. The diameter of the bacterial zone of inhibition was measurement by Image Pro Plus® program (version 4.5) and calculated to bacterial inhibition area. The data were analyzed by SPSS (version 13) to determine the differences among the means at the significance level of $p = 0.05$.

Results The results show that there were no significant differences among the mean bacterial inhibition zone of 500 ppm fluoride dentifrices ($p > 0.05$). In contrast, there were statistically significant differences among mean bacterial inhibition zone of 1000 ppm fluoride dentifrices ($p < 0.05$). When compare between 500 and 1000 ppm fluoride dentifrices, there was a statistically significant difference ($p < 0.05$).

Conclusion 1000 ppm fluoride dentifrices have more antimicrobial effect than 500 ppm fluoride dentifrices. In addition, the quantity of soluble fluoride ions from fluoride dentifrices has correlation with antimicrobial effect.

(CU Dent J. 2008;31:385-98)

Key words: *antimicrobial effect; cariogenic bacteria; fluoride dentifrice*