ว ทันต จุฬาฯ 2556;36:75-84
CU Dent J. 2013;36:75-84

บทวิทยาการ
Original Article

ประสิทธิภาพของการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น หรือเส้นใยขัดฟันต่อการลดปริมาณจุลชีพพึ่งออกซิเจน และจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจน

สุคนธา เจริญวิทย์ ท.บ. (เกียรตินิยม), Ph.D.[1]
จินตนา ศิริชุมพันธ์ ท.บ. (เกียรตินิยม), ท.ม., (ทันตกรรมจัดฟัน), อ.ท. (ทันตกรรมจัดฟัน)[2]
ธนวันต์ วิมลธรรมวัฒน์[3]
ปิติพล ผลเจริญ[3]

[1]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]ภาควิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3]นิสิตทันตแพทย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น หรือเส้นใยขัดฟันต่อการลดปริมาณจุลชีพพึ่งออกซิเจน และไม่พึ่งออกซิเจน

วัสดุและวิธีการ เก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 12 คน ที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น หรือเส้นใยขัดฟัน มาเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษา ชนิด จำนวนจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจน รวมทั้งศึกษาความสามารถในการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจน และร้อยละของจุลชีพที่สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้จากการทำความสะอาดลิ้นโดยวิธีต่าง ๆ ด้วยสถิติการวิเคราะห์ครัสคัล-วอลลิส หรือความแปรปรวนทางเดียว

ผลการศึกษา จุลชีพที่เพาะได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นมีจำนวนมากกว่าที่เพาะได้จากเส้นใยขัดฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่จำนวนจุลชีพที่เพาะได้จากแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นมีจำนวนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สรุป การทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นมีประสิทธิภาพต่อการลดปริมาณจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนดีกว่าเส้นใยขัดฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(ว ทันต จุฬาฯ 2556;36:75-84)

คำสำคัญ: *จุลชีพ; ที่ขูดลิ้น; แปรงสีฟัน; เส้นใยขัดฟัน*

ผู้รับผิดชอบบทความ สุคนธา เจริญวิทย์ suconta.c@chula.ac.th

บทนำ

ลักษณะพื้นผิวของลิ้นด้านบนซึ่งมีลักษณะเป็นซอกหลืบระหว่างปุ่มลิ้น (dental papillae) ทำให้เป็นที่สะสมของเศษอาหาร น้ำลาย เยื่อบุผิวที่หลุดลอกออกมา รวมทั้งเป็นที่อยู่ของจุลชีพทั้งชนิดพึ่งออกซิเจน (aerobic bacteria) และไม่พึ่งออกซิเจน (anaerobic bacteria)[1] จุลชีพเหล่านี้เป็นสาเหตุก่อโรค รวมทั้งก่อให้เกิดภาวะลมหายใจเหม็น โดยภาวะลมหายใจเหม็นเกิดจากกลุ่มจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจน ซึ่งจะย่อยสลายกรดอะมิโนซึ่งมีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ซิสเทอีน (cysteine) และเมไทโอนีน (methionine) ได้ผลผลิตที่เมื่อระเหยแล้วเกิดเป็นกลิ่นเหม็นขึ้น เรียกว่า ไอระเหยของสารประกอบซัลเฟอร์ (volatile sulfur compounds, VSC)[2,3] ซึ่งก๊าซหลักๆ ในกลุ่มนี้ คือ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide) เมทิลเมอร์แคปแทน (methyl mercaptan) และไดเมทิลซัลไฟด์ (dimethyl sulfide) โดยจุลชีพที่ผลิตไอระเหยของสารประกอบซัลเฟอร์เป็นจุลชีพกลุ่มไม่พึ่งออกซิเจน เช่น แทนเนเรลลาฟอร์ไซเทีย *(Tannerella forsythia)* พรีโวเทลลาอินเตอร์มีเดีย *(Prevotella intermedia)* ฟิวโซแบคทีเรียมนิวคลีเอทัม *(Fusobacterium nucleatum)* และพอร์ไฟโลโมแนสจิงจิวาลิส *(Porphylomonas gingivalis)*[4] ซึ่งเป็นจุลชีพกลุ่มเดียวกับที่ทำให้เกิดโรคปริทันต์[5,7] นอกจากในร่องเหงือกและร่องลึกปริทันต์แล้วสามารถพบจุลชีพเหล่านี้ได้หลายแห่งในช่องปาก โดยแหล่งที่พบมาก คือ บริเวณด้านบนของลิ้น มีรายงานว่าแหล่งใหญ่ที่ผลิตไอระเหยของสารประกอบซัลเฟอร์มาจากลิ้น[8-10] ดังนั้นในการควบคุมภาวะลมหายใจเหม็นนอกเหนือจากการทำความสะอาดช่องปากด้วยการแปรงฟันและใช้เส้นใยขัดฟันแล้ว การทำความสะอาดลิ้นก็เป็นสิ่งสำคัญอย่างมากด้วย

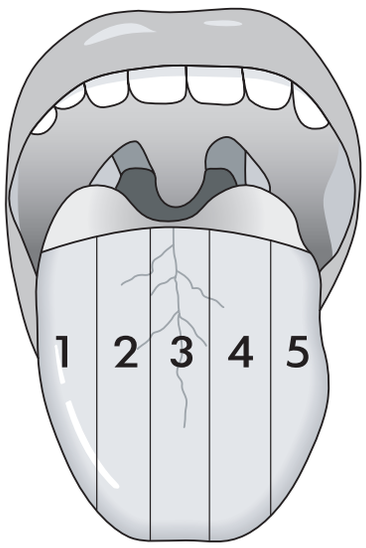
การควบคุมภาวะลมหายใจเหม็นที่เกิดจากคราบจุลินทรีย์บนลิ้นนั้นทำได้ทั้งเชิงกล (mechanical approaches) และการใช้สารเคมี (chemical approaches) ในการฆ่าเชื้อหรือลดปริมาณจุลชีพในรูปของยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ลูกอม และหมากฝรั่ง เป็นต้น[11-15] การควบคุมภาวะลมหายใจเหม็นเชิงกล ได้แก่ การทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน (toothbrush) และการใช้ที่ขูดลิ้น (tongue scraper) ซึ่งมีผู้ผลิตจำหน่ายหลายรูปแบบ[16-20] ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการทำความสะอาดลิ้นเชิงกลสามารถลดระดับไอระเหยของสารประกอบซัลเฟอร์ได้มากถึงร้อยละ 20 ถึง 70[16,18,20] ขึ้นกับชนิดของอุปกรณ์ อย่างไรก็ตาม การทำความสะอาดด้วยแปรงสีฟันและการใช้ที่ขูดลิ้นมักทำให้เกิดอาการขย้อน และบางครั้งอาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่ออ่อนได้

เส้นใยขัดฟัน (dental floss) เป็นอุปกรณ์ที่ช่วยทำความสะอาดซอกฟันบริเวณที่แปรงสีฟันทำความสะอาดได้ไม่ทั่วถึง เนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถเข้าถึงซอกมุมได้ดีจนสามารถนำมาใช้ในการลดระดับของแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่อยู่ระหว่างซอกฟัน (interproximal plaque) ซึ่งมีส่วนในการทำให้เกิดโรคปริทันต์ได้[21] จึงอาจนำมาประยุกต์ใช้ในการทำความสะอาดลิ้นได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานใดกล่าวถึงประสิทธิภาพในการทำความสะอาดลิ้นด้วยเส้นใยขัดฟันโดยตรงมาก่อน ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการทำความสะอาดลิ้นด้วยเส้นใยขัดฟันเปรียบเทียบกับการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นในการกำจัดจำนวนจุลชีพบริเวณด้านบนของลิ้นโดยการเปรียบเทียบปริมาณจุลชีพในคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ถูกกำจัดออกโดยการทำความสะอาดด้วยวิธีต่างๆ กัน เพื่อเป็นประโยชน์ในการแนะนำการทำความสะอาดลิ้นให้ผู้ป่วยที่มีปัญหาเรื่องภาวะลมหายใจเหม็นต่อไป

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มศึกษาเป็นนิสิตทันตแพทย์เพศชายจำนวน 12 คน อายุระหว่าง 19-21 ปี เป็นผู้ที่มีสุขภาพดี ไม่มีโรคทางระบบที่ส่งผลต่อกลิ่นปาก ไม่มีฟันผุ หินปูน และรอยโรคในช่องปาก เป็นผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ไม่ได้รับประทานยาปฏิชีวนะก่อนการทดลองอย่างน้อยเป็นเวลา 1 เดือน และไม่ได้อยู่ในระหว่างการใส่เครื่องมือจัดฟันหรือฟันเทียม กำหนดให้กลุ่มศึกษางดอาหารและเครื่องดื่ม รวมทั้งงดทำความสะอาดช่องปากด้วยวิธีการใดๆ ตั้งแต่เวลาประมาณ 22.00 น. ของคืนก่อนทำการทดลองจนถึงเวลาทดลอง กลุ่มศึกษาแต่ละคนจะถูกเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นด้วยเครื่องมือต่างชนิดกัน 3 ชนิด ได้แก่ แปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น หรือเส้นใยขัดฟัน โดยการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นด้วยวิธีถัดไปต้องห่างจากครั้งที่แล้วอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เนื่องจากมีการศึกษาว่าปริมาณจุลชีพที่ลดลงจากการทำความสะอาดลิ้นจะกลับคืนสู่ปกติภายในสี่วัน[19] ลำดับก่อนหลังของการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นด้วยเครื่องมือใดเป็นแบบสุ่มครั้งเดียวได้ลำดับการทดลองทั้งสามครั้ง (randomized complete block) การเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นแต่ละครั้งจะทำการเก็บจากกลุ่มศึกษาคราวละ 3 คนขึ้นไป โดยทุกการทดลองจะได้คราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บจากเครื่องมือทั้ง 3 ชนิดจากต่างบุคคลในคราวเดียวกัน

เครื่องมือ 3 ชนิดที่ใช้ในการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้น ได้แก่ แปรงสีฟันชนิดขนแปรงนุ่ม ขนาดหัวแปรงเฉพาะส่วนที่เป็นขนแปรงกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 2.5 เซนติเมตร มีขนแปรงจำนวน 40 กลุ่ม (ฟลูออคารีล, ไอดีเอส แมนูแฟคเจอริ่ง) ที่ขูดลิ้นลักษณะโค้ง ความกว้างของส่วนที่ขูดลิ้น 2.5 เซนติเมตร (เบอร์-แมน, โกลบอลทีมโปรดักส์) และเส้นใยขัดฟันชนิดเส้นแบนไม่เคลือบขี้ผึ้ง (รีซ, จอห์นสันแอนด์จอห์นสัน) ซึ่งผ่านการทำไร้เชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (ความดัน 12 ปอนด์/ตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที) เริ่มทำการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นโดยการแบ่งลิ้นเป็น 5 บริเวณจากซ้ายไปขวา (รูปที่ 1) โดยขอบเขตด้านหลังอยู่บริเวณโคนลิ้นเพื่อป้องกันไม่ให้กลุ่มศึกษาเกิดการขย้อน ขอบเขตด้านหน้า คือ ปลายลิ้น ทำการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นโดยการลากแปรงสีฟันหรือที่ขูดลิ้นจากด้านโคนลิ้นมายังปลายลิ้น ส่วนการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นโดยใช้เส้นใยขัดฟันนั้นทำโดยพันเส้นใยขัดฟันกับปลายนิ้วกลาง และใช้นิ้วหัวแม่มือกดเส้นใยขัดฟันลงบนลิ้นให้มีระยะห่างระหว่างนิ้ว 2 ข้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร ลากจากโคนลิ้นมายังปลายลิ้นบริเวณละ 2 ครั้งจนครบทั้ง 5 บริเวณ รวมทั้งหมด 10 ครั้ง พยายามควบคุมความแรงในการลากเครื่องมือโดยให้ผู้ทำการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นเป็นคนเดียวกันทุกการทดลอง นำเครื่องมือพร้อมทั้งคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บได้ทั้งหมดไปใส่ไว้ในหลอดทดลองพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตรที่บรรจุด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (phosphate buffer saline solution; PBS solution ซึ่งประกอบด้วย โซเดียมคลอไรด์ 8 กรัมต่อลิตร โปตัสเซียมคลอไรด์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิกไดไฮเดรท 1.44 กรัมต่อลิตร และโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 240 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.4) จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทหรือผนึกด้วยพาราฟิล์มในกรณีที่ด้ามของเครื่องมือยาวกว่าความสูงของหลอด ทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (แลบเน็ท, แลบเน็ทอินเตอร์เนชั่นแนล) ที่ความแรงเท่ากันติดต่อกันเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นพักไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้คราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ตกค้างอยู่ในเครื่องมือหลุดออกจากเครื่องมือ นำมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารติดต่อกันเป็นเวลา 30 วินาทีอีกครั้ง แล้วจึงนำสารละลายที่มีคราบจุลินทรีย์บนลิ้นแขวนลอยอยู่ 1 มิลลิลิตร ไปทำการเจือจางต่อเนื่อง (serial dilution) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตจนได้เป็นสารละลายเจือจาง 1,000 เท่า นำสารละลายที่เจือจาง 1,000 เท่าแล้ว 0.5 มิลลิลิตร ไปเพาะเชื้อในอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อทริปติก ซอย (tryptic soy agar; TSA) และวุ้นเลี้ยงเชื้อผสมเลือด (blood agar) ร้อยละ 5 สำหรับจุลชีพพึ่งออกซิเจน และจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนตามลำดับ วิธีการทดลองในครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจาก



รูปที่ 1 ด้านบนของลิ้นที่ถูกแบ่งออกเป็น 5 บริเวณ ซึ่งใช้เป็นจุดกำหนดในการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้น

Fig. 1 The dorsum of tongue was divided into 5 areas which were used as the landmarks for collecting the tongue coat.

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใบรับรองเลขที่ 37/2008

ทำการเพาะจุลชีพพึ่งออกซิเจนในตู้อบเชื้อจุลชีพพึ่งออกซิเจน (ลาเบค, ลาเบค แลบอราทอรี่ อิควิปเมนท์) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนเชื้อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนทำการเพาะเชื้อในภาชนะไร้อากาศ (anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยระยะเวลาทั้งหมดตั้งแต่เริ่มเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นจนนำไปเพาะในตู้อบเชื้อหรือภาชนะไร้อากาศเป็นระยะเวลาไม่เกิน 4 ชั่วโมง เมื่อเพาะเชื้อครบ 24 ชั่วโมงซึ่งเป็นระยะเวลาที่โคโลนีของจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนเติบโตจนมีขนาดเหมาะสมในการนับจำนวนโคโลนี และการบันทึกลักษณะของโคโลนีทางด้านรูปร่าง (form) ลักษณะเฉพาะทางแสง (optical characteristic) สี (colour) และพื้นผิว (surface) จำนวนโคโลนีของจุลชีพแต่ละลักษณะจะถูกนำมารวมกันเป็นจำนวนจุลชีพรวม ซึ่งแสดงถึงปริมาณจุลชีพที่ถูกกำจัดออกโดยเครื่องมือแต่ละชนิด โดยปกติจำนวนโคโลนีที่นับได้จากการเพาะเชื้อจะต้องถูกแปลงเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (colony forming units/ml) โดยนำมาคูณกับอัตราเจือจาง (ในการทดลองนี้อัตราเจือจางเท่ากับ 2,000) แต่เนื่องจากอัตราการเจือจางและปริมาณสารละลายตั้งต้นที่ใช้ในการทดลองนี้เท่ากันหมด จึงทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มที่ทำความสะอาดลิ้นด้วยวิธีต่าง ๆ จากจำนวนโคโลนีของจุลชีพที่นับได้โดยตรงโดยใช้สถิติวิธีครัสคัล-วอลลิส (Kruskal-Wallis) สำหรับจุลชีพพึ่งออกซิเจน เนื่องจากการกระจายของข้อมูลไม่ปกติ และสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way ANOVA) และสถิติการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยวิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด (Least Significant Different; LSD) สำหรับจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เพื่อศึกษาว่าจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่เพาะได้เป็นจุลชีพที่สามารถก่อให้เกิดไอระเหยของสารประกอบซัลเฟอร์ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของภาวะลมหายใจเหม็นหรือไม่ นำเชื้อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่เพาะได้แต่ละลักษณะมาเพาะเชื้อต่อช่วง (subculture) ในอาหารวุ้นเพาะเชื้อสำหรับจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่มีส่วนผสมของแอล-ซีสเทอีน (L-cysteine) ร้อยละ 0.05 กลูตาไทโอน (glutathione) ร้อยละ 0.12 และเลดอะซีเตท (lead acetate) ร้อยละ 0.02 ซึ่งเป็นอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อพิเศษเมื่อจุลชีพสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกมาจะทำปฏิกิริยากับเลดอะซีเตทปรากฏเป็นโคโลนีสีดำ นำจำนวนโคโลนีที่เป็นสีดำมาคำนวณเป็นร้อยละต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนทั้งหมด

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะโคโลนีของจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนที่ได้จากการทดลอง

Table 1 demonstrates characteristics of colonies of aerobic and anaerobic bacteria obtained from the experiments

code	aerobe/ anaerobe	form	optical characteristic	colour	surface
A1	aerobe	circular	translucent	yellowish	glistening rough
A2	aerobe	circular	transparent	yellowish white	glistening smooth
A3	aerobe	circular	opaque	yellowish white	glistening smooth
A4	aerobe	irregular	translucent	yellowish white	glistening smooth
A5	aerobe	irregular	opaque	yellowish white	dull rough
AN1	anaerobe	circular	translucent	white	glistening rough
AN2	anaerobe	circular	opaque	yellowish white	dull rough
AN3	anaerobe	circular	translucent	yellowish	glistening smooth
AN4	anaerobe	circular	opaque	yellowish white	glistening smooth
AN5	anaerobe	circular	transparent	white	glistening smooth
AN6	anaerobe	irregular	opaque	yellowish white	dull rough

ผลการศึกษา

เมื่อนำคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยการใช้แปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น และเส้นใยขัดฟัน จากกลุ่มศึกษาแต่ละคนไปเพาะเลี้ยงในภาวะที่ใช้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าจุลชีพพึ่งออกซิเจนที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกัน เมื่อบันทึกลักษณะของโคโลนีเหล่านี้แยกตามรูปร่างลักษณะเฉพาะทางแสง สี และพื้นผิว สามารถบันทึกลักษณะโคโลนีได้ 5 ลักษณะ โดยได้กำหนดให้เป็นสัญลักษณ์เอ 1 (A1) ถึง เอ 5 (A5) ส่วนลักษณะโคโลนีของจุลชีพที่ไม่พึ่งออกซิเจนที่บันทึกได้มี 6 ลักษณะ กำหนดให้เป็นสัญลักษณ์เอเอ็น 1 (AN1) ถึงเอเอ็น 6 (AN6) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนโคโลนีของจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นแต่ละวิธีแยกตามลักษณะของจุลชีพและยอดรวมทั้งหมด แสดงไว้ในตารางที่ 2 และรูปที่ 2

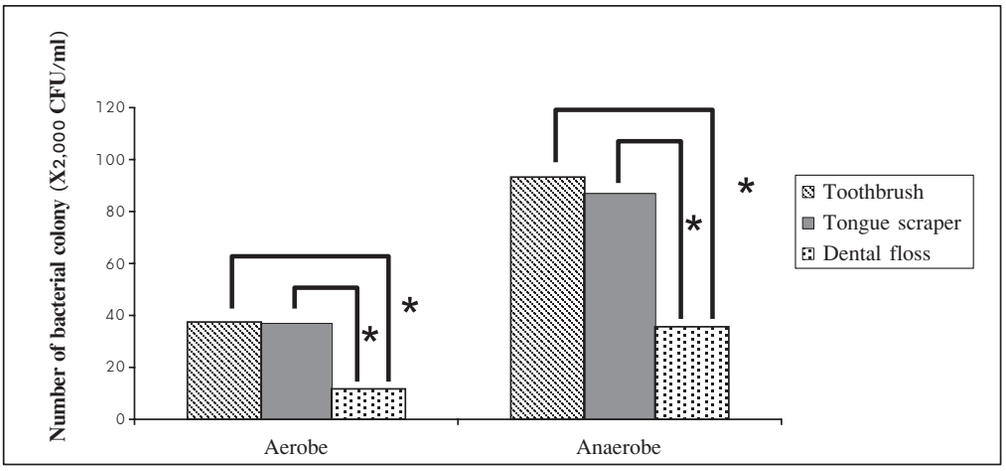
เมื่อเปรียบเทียบจำนวนรวมของจุลชีพพึ่งออกซิเจนที่เพาะได้จากคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บโดยการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น หรือเส้นใยขัดฟัน พบว่าจำนวนจุลชีพที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยเส้นใยขัดฟันมีค่าน้อยกว่าแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p = 0.012 และ p = 0.007 ตามลำดับ) ส่วนในกลุ่มจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจน จำนวนจุลชีพทั้งหมดที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยเส้นใยขัดฟันมีค่าน้อยกว่าแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน (p = 0.022 และ p = 0.038 ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟัน และที่ขูดลิ้น ไม่พบความแตกต่างกันทั้งปริมาณจุลชีพพึ่งออกซิเจน และไม่พึ่งออกซิเจน

เมื่อนำเชื้อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่เพาะได้แต่ละลักษณะมาเพาะเชื้อต่อช่วงในอาหารเพาะเชื้อที่มีส่วนผสมของเลดอะซีเตท พบว่าเชื้อที่เพาะต่อช่วงจากจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนโคโลนีจุลชีพที่ได้จากการทดลองวิธีต่าง ๆ ตัวเลขในวงเล็บแสดงจำนวนกลุ่มศึกษาที่พบโคโลนีลักษณะนั้น ๆ

Table 2 Mean and standard deviation of the number of bacterial colonies obtained by different types of experiments. Numbers in parentheses represent number of subject having that type of colony.

Code	Number of colonies		
	Toothbrush	**Tongue scraper**	**Dental floss**
A1	- (0)	10.33 ± 1.53 (3)	3.50 ± 2.12 (2)
A2	31.63 ± 19.50 (8)	16.50 ± 13.33 (10)	9.50 ± 7.66 (6)
A3	11.67 ± 8.09 (9)	20.00 ± 19.80 (2)	9.40 ± 14.52 (5)
A4	26.50 ± 28.99 (2)	71.00 ± 97.58 (2)	4.00 (1)
A5	5.43 ± 6.70 (7)	8.75 ± 6.86 (8)	4.80 ± 2.68 (5)
Total	**37.42 ± 30.48 (12)**	**36.83 ± 41.51 (12)**	**11.58 ± 9.24 (12)**
AN1	16.33 ± 13.43 (3)	59.33 ± 47.09 (3)	14.00 ± 8.49 (2)
AN2	- (0)	44.00 ± 5.66 (2)	21.50 ± 24.75 (2)
AN3	3.00 (1)	11.00 (1)	54.50 ± 40.31 (2)
AN4	47.40 ± 35.76 (5)	25.33 ± 4.16 (3)	22.50 ± 35.15 (4)
AN5	67.00 ± 55.67 (10)	65.44 ± 40.99 (9)	16.00 ± 16.48 (8)
AN6	38.00 ± 27.42 (4)	24.75 ± 30.41 (4)	5.00 ± 2.83 (5)
Total	**92.58 ± 67.79 (12)**	**86.75 ± 57.30 (12)**	**35.25 ± 48.79 (12)**



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจุลชีพที่เพาะได้จากคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ถูกกำจัดออกด้วยแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น และเส้นใยขัดฟัน

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Fig. 2 Comparison of means of number of bacterial colonies obtained from the tongue-coat removed by tooth-brush, tongue scraper and dental floss

*statistically significant difference at 95 percent of confidence

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของร้อยละของจำนวนจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่ปรากฏเป็นโคโลนีสีดำ

Table 3 Mean and standard deviation of percentages of anaerobic bacteria presenting black colony

	Percentages of black colonies		
Code	**Toothbrush**	**Tongue scraper**	**Dental floss**
AN1	3.83 ± 6.97	14.50 ± 29.89	9.33 ± 23.11
AN2	0	4.25 ± 9.93	4.58 ± 10.96
AN6	13.33 ± 20.66	10.75 ± 17.69	13.17 ± 18.80
Total	**17.17 ± 19.08**	**29.50 ± 36.43**	**27.08 ± 33.05**

มีลักษณะโคโลนีแบบเอเอ็น 1 เอเอ็น 2 และที่มีลักษณะโคโลนีแบบเอเอ็น 6 ปรากฏเป็นโคโลนีสีดำ คำนวณร้อยละของจุลชีพที่มีลักษณะโคโลนีแบบเอเอ็น 1 เอเอ็น 2 เอเอ็น 6 ซึ่งเป็นโคโลนีสีดำต่อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนทั้งหมดของการทำความสะอาดลิ้นทั้งสามวิธี (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้ได้ควบคุมลักษณะทั่วไปและปัจจัยเกินต่างๆ ที่จะส่งผลกระทบต่อจำนวนจุลชีพ โดยได้ทำการเลือกกลุ่มศึกษาที่เป็นผู้มีสุขภาพดี ไม่มีโรคทางระบบ และไม่สูบบุหรี่ เพราะปัจจัยเหล่านี้อาจส่งผลให้กลุ่มศึกษามีจุลชีพในช่องปากมากกว่าปกติ ทำให้ผลการทดลองที่ได้มีความผิดพลาดไปในทางที่มากเกินปกติ

ในวันก่อนการทดลองจะทำการควบคุมพฤติกรรมการรับประทานอาหารและการทำความสะอาดช่องปากที่จะมีผลต่อจุลชีพบนลิ้น โดยจะควบคุมไม่ให้กลุ่มศึกษาทำความสะอาดบริเวณลิ้นด้วยการใช้น้ำยาบ้วนปากหรือการแปรงลิ้นในคืนก่อนการทดลอง และไม่ให้กลุ่มศึกษาทำความสะอาด

ช่องปากและงดการรับประทานอาหารและดื่มน้ำในเช้าก่อนทำการทดลอง เพื่อรักษาสภาพให้ช่องปากของกลุ่มศึกษาอยู่ในสภาวะที่มีจุลชีพบนลิ้นมากที่สุด คือ ในช่วงหลังตื่นนอน ทำให้การเก็บผลการทดลองในแต่ละวิธีได้ผลที่มีค่ามาก ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของประสิทธิภาพในแต่ละวิธีการได้มากที่สุด

เพื่อลดความแตกต่างของประสิทธิภาพในการทำความสะอาดลิ้นที่เกิดจากเครื่องมือ การทดลองนี้ได้ควบคุมแปรงสีฟัน ที่ขูดลิ้น และเส้นใยขัดฟันที่ใช้ในแต่ละกลุ่มศึกษาให้เป็นยี่ห้อและรุ่นเดียวกันทั้งหมด การเก็บตัวอย่างจากกลุ่มศึกษามีการกำหนดแบบแผนแน่นอน ทั้งจำนวนครั้งและบริเวณของลิ้นที่จะขูด รวมทั้งให้ผู้เก็บตัวอย่างเป็นคนเดียวกันตลอดการทดลอง เพื่อให้การเก็บตัวอย่างของกลุ่มศึกษาทุกครั้งมีความใกล้เคียงกันมากที่สุด

เนื่องจากการศึกษานี้ไม่ได้ทำการวัดปริมาณจุลชีพตั้งต้นและไม่ควบคุมการทำความสะอาดช่องปากในชีวิตประจำวันของกลุ่มศึกษาแต่ละคน ดังนั้น จึงมีความแตกต่างของจุลชีพบนคราบจุลินทรีย์บนลิ้นระหว่างกลุ่มศึกษาทั้งในด้านชนิดและปริมาณซึ่งอาจส่งผลต่อการทดลองได้ ดังนั้น การทดลองนี้จึงเลือกใช้วิธีการศึกษาแบบไขว้กัน (crossover study) ซึ่งกลุ่มศึกษาทุกคนได้รับการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นด้วยเครื่องมือทุกชนิด เพื่อลดความแปรปรวนเนื่องจากความแตกต่างดังกล่าว

จากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าปริมาณจุลชีพที่ลดลงจากการทำความสะอาดลิ้นจะกลับคืนสู่ปกติภายในสี่วัน แม้ว่าจะแปรงฟันทุกวัน วันละ 2 ครั้ง[19] ดังนั้น การทดลองจึงเว้นระยะเวลา 1 สัปดาห์หลังจากที่กลุ่มศึกษาได้รับการทำความสะอาดลิ้นด้วยวิธีหนึ่งๆ ก่อนทำการทดลองครั้งถัดไป เพื่อทำให้สภาพช่องปากโดยเฉพาะจุลชีพที่อยู่บนลิ้นของกลุ่มศึกษานั้นกลับมาสู่สภาพปกติ นอกจากนี้การจัดลำดับก่อนหลังของการเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นด้วยเครื่องมือใดเป็นแบบสุ่มครั้งเดียวได้ลำดับการทดลองทั้งสามครั้ง ทำให้การเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจะได้คราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บด้วยวิธีต่างกันทั้งสามวิธีในคราวเดียวกัน และทุกวิธีจะถูกจัดเป็นลำดับที่หนึ่ง ที่สอง และที่สาม อย่างเสมอภาคกัน ซึ่งวิธีการนี้จะช่วยลดความแปรปรวนปลีกย่อยในระหว่างการทดลองแต่ละครั้ง

ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนทั้งหมดที่ได้จากการทำความสะอาดลิ้นด้วยเส้นใยขัดฟันมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้แปรงสีฟันและกลุ่มที่ใช้ที่ขูดลิ้นอย่างมีนัยสำคัญ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากปริมาณคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บได้ไม่เท่ากัน แปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นมีพื้นที่ผิวมากกว่าเส้นใยขัดฟัน ทำให้สามารถเก็บคราบจุลินทรีย์บนลิ้นได้มากกว่าเส้นใยขัดฟันในจำนวนครั้งที่ทำความสะอาดเท่ากัน ซึ่งเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่า และเมื่อนำคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บได้ไปละลายในสารละลายในปริมาณที่เท่ากันพบว่าสารละลายของคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บโดยแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นจะขุ่นกว่าสารละลายของคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่เก็บโดยเส้นใยขัดฟันอย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตาม จากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ไม่พบจุลชีพพึ่งออกซิเจนที่มีลักษณะโคโลนีแบบเอ า และจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่มีลักษณะโคโลนีแบบเอเอ็น 2 ในคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ได้จากการทำความสะอาดด้วยแปรงสีฟันจากกลุ่มตัวอย่างคนใดเลย ขณะที่พบจุลชีพทุกชนิดที่รายงานในการศึกษานี้ได้จากการทำความสะอาดด้วยที่ขูดลิ้นและเส้นใยขัดฟัน

สำหรับร้อยละของจุลชีพที่ก่อให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ต่อจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนพบว่าคราบจุลินทรีย์บนลิ้นที่ได้จากการใช้แปรงสีฟันมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการที่ไม่พบจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนที่มีลักษณะโคโลนีแบบเอเอ็น 2 ซึ่งเป็นกลุ่มจุลชีพที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จากการทำความสะอาดด้วยแปรงสีฟัน

จากผลการทดลองสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการแนะนำวิธีการทำความสะอาดช่องปาก โดยเฉพาะการกำจัดคราบจุลินทรีย์บนลิ้นของผู้ป่วยได้ กล่าวคือ ในจำนวนครั้งที่ทำความสะอาดเท่ากันการใช้แปรงสีฟันหรือที่ขูดลิ้นสามารถกำจัดคราบจุลินทรีย์บนลิ้นได้มากกว่า ทำให้สามารถกำจัดปริมาณจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนได้มากกว่าการใช้เส้นใยขัดฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าเส้นใยขัดฟันสามารถกำจัดคราบจุลินทรีย์บนลิ้นและจุลชีพพึ่งออกซิเจนและไม่พึ่งออกซิเจนได้เช่นกัน หากแต่ว่าอาจจะต้องเพิ่มจำนวนครั้งในการทำความสะอาดให้มากขึ้น เพื่อให้มีประสิทธิภาพเท่าการทำความสะอาดโดยใช้แปรงสีฟันและที่ขูดลิ้น

สรุป

การทำความสะอาดลิ้นด้วยแปรงสีฟันและที่ขูดลิ้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดจุลชีพพึ่งออกซิเจนและจุลชีพไม่พึ่งออกซิเจนไม่แตกต่างกัน และทั้ง 2 วิธีมีประสิทธิภาพมากกว่าการทำความสะอาดด้วยเส้นใยขัดฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนเพื่อการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2552 ของคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และความร่วมมือเป็นอย่างดีจากกลุ่มศึกษาแต่ละราย ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Loesche WJ, Kazor C. Microbiology and treatment of halitosis. Periodontol 2000. 2002;28:256-79.
2. Persson S, Claesson R, Carlsson J. The capacity of sub-gingival microbiotas to produce volatile sulfur compounds in human serum. Oral Microbiol Immunol. 1989;4:169-72.
3. Persson S, Edlund MB, Claesson R, Carlsson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. Oral Microbiol Immunol. 1990;5:195-201.
4. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. J Periodontol. 1977;48:13-20.
5. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 2002;28:12-55.
6. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998;25:134-44.
7. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. Int Dent J. 2002;52 Suppl 3:217-20.
8. De Boever EH, Loesche WJ. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. J Am Dent Assoc. 1995;126:1384-93.
9. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. Int Dent J. 2002;52 Suppl 3:217-20.
10. Washio J, Sato T, Koseki T, Takahashi N. Hydrogen sulfide-producing bacteria in tongue biofilm and their relationship with oral malodour. J Med Microbiol. 2005;54:889-95.
11. Brunette DM, Proskin HM, Nelson BJ. The effects of dentifrice systems on oral malodor. J Clin Dent. 1998;9:76-82.
12. Frascella J, Gilbert R, Fernandez P. Odor reduction potential of a chlorine dioxide mouthrinse. J Clin Dent. 1998;9:39-42.
13. Gerlach RW, Hyde JD, Poore CL, Stevens DP, Witt JJ. Breath effects of three marketed dentifrices: a comparative study evaluating single and cumulative use. J Clin Dent. 1998;9:83-8.
14. Niles HP, Vazquez J, Rustogi KN, Williams M, Gaffar A, Proskin HM. The clinical effectiveness of a dentifrice containing triclosan and a copolymer for providing long-term control of breath odor measured chromatographically. J Clin Dent. 1999;10:135-8.
15. Olshan AM, Kohut BE, Vincent JW, Borden LC, Delgado N, Qaqish J, et al. Clinical effectiveness of essential oil-containing dentifrices in controlling oral malodor. Am J Dent. 2000;13:18C-22C.
16. Seemann R, Kison A, Bizhang M, Zimmer S. Effectiveness of mechanical tongue cleaning on oral levels of volatile sulfur compounds. J Am Dent Assoc. 2001;132:1263-7; quiz318.
17. Haas AN, Silveira EM, Rosing CK. Effect of tongue cleansing on morning oral malodour in periodontally healthy individuals. Oral Health Prev Dent. 2007;5:89-94.
18. Casemiro LA, Martins CHG, Carvalho TC, Panzeri H, Lavrador MAS, Pires-De-Souza FCP. Effectiveness of a new toothbrush design versus a

conventional tongue scraper in improving breath odor and reducing tongue microbiota. J Appl Oral Sci. 2008;16:271-4

19. Bordas A, McNab R, Staples AM, Bowman J, Kanapka J, Bosma MP. Impact of different tongue cleaning methods on the bacterial load of the tongue dorsum. Arch Oral Biol. 2008;53 Suppl 1:S13-8.
20. Pedrazzi V, Sato S, Chiarello de Mattos, Lara EHG, Panzeri H. Tongue-cleansing methods: a comparative clinical trial employing a toothbrush and a tongue scraper. J Periodontol. 2004;75:1009-12.
21. Corby PM, Biesbrock A, Bartizek R, Corby AL, Monteverde R, Ceschin R, et al. Treatment outcomes of dental flossing in twins: molecular analysis of the interproximal microflora. J Periodontol. 2008;79:1426-33.

Efficiency of tongue-cleansing using toothbrush, tongue scraper or dental floss in reducing aerobic and anaerobic bacteria

Suconta Chareonvit D.D.S. (Hons), Ph.D.[1]
Chintana Sirichompun D.D.S. (Hons), M.D.Sc. (Orthodontics), Dip.Th.B.O.[2]
Tanawan Wimoltamwat[3]
Pitipol Pholcharoen[3]

[1]Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2]Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[3]Dental student, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Abstract

Objective To compare the efficiency of tongue-cleansing methods using a toothbrush, a tongue scraper or dental floss in reducing aerobic and anaerobic bacteria.

Materials and methods Tongue coat collected from 12 subjects by cleaning the tongue with a toothbrush, a tongue scraper, or dental floss were cultured to investigate type and number of aerobic and anaerobic bacteria. The ability to produce hydrogen sulfide gas of anaerobic bacteria was also investigated. The average numbers of aerobic and anaerobic bacteria colonies as well as the percentage of hydrogen sulfide producing bacteria obtained from each tongue cleansing method were compared using Kruskal-Wallis test or one-way ANOVA.

Results The numbers of bacteria cultured from tooth-brushing and tongue-scraping methods were significantly greater than those from the dental floss ($p < 0.05$). While bacteria cultured from tooth-brushing and tongue-scraping methods were not significantly different.

Conclusion Tongue-cleansing methods using a toothbrush and a tongue scraper were significantly more effective in reducing the amount of aerobic and anaerobic bacteria than dental floss.

(CU Dent J. 2013;36:75-84)

Key words: *bacteria; dental floss; tongue scraper; toothbrush*

Correspondence to Suconta Chareonvit, suconta.c@chula.ac.th