

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบเป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของคนไทย จากรายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 5 ปีพ.ศ. 2543-2544 (คณะกรรมการทันตสุขภาพแห่งชาติ, 2545) พบประชากรไทยเป็นโรคฟันผุในฟันน้ำนมร้อยละ 87.4 และในฟันแท้ร้อยละ 57.3 ส่วนปัญหาปริทันต์ที่พบคือ การมีเหงือกอักเสบในกลุ่มอายุ 12 ปี ร้อยละ 76.9 และกลุ่มผู้สูงอายุมีร่องลึกปริทันต์ ร้อยละ 61.6 ปัจจัยหนึ่งในการก่อโรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบ คือ เชื้อแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะกับผิวฟันในรูปไบโอฟิล์ม (biofilm) (Darveau, Tanner และ Page, 1997; Gibbons, 1989) เชื่อว่าเชื้อแบคทีเรียสำคัญที่เป็นเชื้อก่อโรคฟันผุ คือ เชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) (Marsh, 1994) และเชื้อแบคทีเรียสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบ คือ เชื้อแอกทิโนบาซิลลัสแอกทิโนไมซิเทมคอมมิแทนส์ (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) เชื้อพอร์ไฟโรโมนเนสจิงจิวาลิส (*Porphyromonas gingivalis*) และเชื้อแบคทีเรียคีสฟอร์ซิซัส (*Bacteroides forsythus*) (Zambon, 1996) จึงได้มีการนำปริมาณของเชื้อแบคทีเรียมาเป็นตัวบ่งชี้อย่างหนึ่งในการจำแนกประชากรตามระดับความเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบ ดังนั้น การทำให้ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ลดลงจึงเป็นดัชนีชี้วัดสำคัญที่แสดงให้เห็นว่าความเสี่ยงในการเกิดโรคลดลง ซึ่งเท่ากับช่วยป้องกันการเกิดโรคได้ (Silverstone และคณะ, 1981)

การกำจัดและการยับยั้งการก่อตัวใหม่ของคราบจุลินทรีย์ เพื่อช่วยป้องกันการเกิดโรคปริทันต์อักเสบและโรคฟันผุที่มีประสิทธิภาพทำได้โดยวิธีทางกล คือ การแปรงฟันอย่างถูกวิธี ร่วมกับการใช้อุปกรณ์เสริมในการทำทำความสะอาด เช่น แปรงซอกฟัน ไหมขัดฟัน และอื่นๆ ตามความเหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละราย แต่มีประชากรบางกลุ่มที่ไม่สามารถแปรงฟันได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือมีความเสี่ยงในการเกิดโรคสูงกว่าประชากรทั่วไป ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีปัญหาในการควบคุมกล้ามเนื้อและข้อมือ ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยที่พักฟื้นในโรงพยาบาล ผู้ป่วยที่ไม่สามารถช่วยเหลือตนเองได้ ผู้ที่มีปัญหาสภาวะทางจิต หรือผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เป็นต้น ซึ่งมีการแนะนำให้ใช้สารเคมีเสริมวิธีทางกลในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียและต่อต้านการสะสมใหม่ของคราบจุลินทรีย์ โดยสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารกลุ่มคลอโรเฮกซิดีน (chlorhexidine) (Jones, 1997) หรือ กลุ่มฟีนอล ยาสีฟันที่ผสมสารสกัดกลุ่มไซลิทอล (xylitol) (Hildebrandt และ Sparks, 2000) หรือ ไตรโคลซาน (triclosan) (Cullinan และคณะ, 2003) รวมถึงยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะทางระบบเสริมในการรักษาโรคปริทันต์ด้วย



ต่อมิลลิลิตร โดยใช้เวลาสัมผัสกับเข็มน้อยที่สุด และไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ในช่องปาก เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสเตรปโตคอกคัสสมิวแทนส์ และ เชื้อเอกทีโนบาซิลลัสเอกทีโนไมซิเทมคอมมิแทนส์ ปริมาณ  $10^6$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดที่มีการสัมผัสกันของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลและแบคทีเรีย (time-kill analysis) ตามเวลาที่กำหนด คือ 1 5 10 20 30 และ 60 นาที เปรียบเทียบกับคลอเฮกซิดีนในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity test) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนในความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองดังกล่าวข้างต้น ต่อเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก (gingival fibroblasts) และเซลล์ไลน์สร้างเคอราตินฮากาด (HaCaT cell line) เปรียบเทียบกับคลอเฮกซิดีนในห้องปฏิบัติการ

### สมมุติฐานของการวิจัย

1. สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นหนึ่งสามารถฆ่าเชื้อสเตรปโตคอกคัสสมิวแทนส์ และ เชื้อเอกทีโนบาซิลลัสเอกทีโนไมซิเทมคอมมิแทนส์ ได้ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดที่กำหนด คือ 1 นาที ในหลอดทดลอง
2. สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกและเซลล์ไลน์สร้างเคอราติน น้อยกว่าหรือเท่ากับคลอเฮกซิดีน

### ขอบเขตของการวิจัย

1. เป็นการทดลองในหลอดทดลอง โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบคือเชื้อสเตรปโตคอกคัสสมิวแทนส์ สายพันธุ์ ATCC 25175 ทำการเลี้ยงและทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดน้ำและชนิดวุ้นทริปติเคสชอย (Trypticase soy agar; TSA และ Trypticase soy broth; TSB) (Difco<sup>®</sup>, Becton Dickinson and Company, France) และ เชื้อเอกทีโนบาซิลลัสเอกทีโนไมซิเทมคอมมิแทนส์ สายพันธุ์ ATCC 43718 เลี้ยงและทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดน้ำและชนิดวุ้นเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain heart infusion agar; BHA และ Brain heart infusion broth; BHI) (Difco<sup>®</sup> บริษัท Becton Dickinson and Company, France) โดยเลี้ยงในตู้ปรับอุณหภูมิและก๊าซเฉพาะอย่างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5

2. สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลาจากเปลือกทุเรียน ได้รับการอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. เซลล์ไลน์สร้างเคอราตินสากาต ได้รับการอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ปิยมาศ สำเร็จกาญจนกิจ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ข้อตกลงเบื้องต้น

การทดลองทุกอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยผู้ทำการทดลองคนเดิม กระบวนการในการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทำการทดลอง ชนิดและปริมาณของสารในการทำการทดลองทุกครั้งเหมือนกันมากที่สุด

### ข้อจำกัดของการวิจัย

1. ความแม่นยำและเที่ยงตรงของทันตแพทย์ผู้ทำการทดลองในการทำซ้ำ ในกระบวนการเลี้ยงเซลล์ ลงในจานหลุมเพาะเลี้ยงเซลล์ และการดูเชื้อในการเจือจางเชื้อแบคทีเรียในการทดลอง อย่างไรก็ตามได้มีความพยายามลดความผิดพลาดนี้โดยการฝึกทักษะด้านการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือก่อนทำการทดลองจริง
2. เซลล์ที่เลี้ยงหรือแบคทีเรียอาจมีการตายไประหว่างทำการทดลอง โดยไม่ได้เป็นผลจากสารสกัดที่ใช้ ค่าที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้งจึงมีความแตกต่างกัน จึงสรุปผลการทดลองจากค่าทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์ และมีกลุ่มควบคุมในการทดลองทุกครั้ง
3. การศึกษานี้เป็นการศึกษาในหลอดทดลองเท่านั้น สภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการทดลองถูกจำกัดให้อยู่ภายในห้องปฏิบัติการ ยังไม่ได้จำลองจากสภาวะช่องปากที่แท้จริง
4. เซลล์ไลน์สร้างเคอราตินที่นำมาทำการศึกษานั้นไม่ได้เป็นเซลล์ที่นำมาจากช่องปากของผู้ป่วย จึงเป็นตัวแทนของเซลล์ในหลอดทดลองเท่านั้น ยังไม่เป็นตัวแทนของประชากรเซลล์ที่แท้จริงในช่องปาก

### คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. ตัวควบคุมบวก (positive control) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียหรือเซลล์ที่ทดสอบโดยสารเคมีซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและฆ่าเซลล์ที่ใช้ทดสอบ ในที่นี้หมายถึงคลอเซกซิดีนร้อยละ 0.1
2. ตัวควบคุมลบ (negative control) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียหรือเซลล์ที่ทดสอบโดยสารเคมีซึ่งไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย หมายถึง อาหารทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีฆ่าเชื้อภายใต้ความกดอากาศที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความกดอากาศ 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที และอาหารเลี้ยงเชื้อเซลล์ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร

4. สารสกัด หมายถึง สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับด้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบ ในรูปแบบยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก แผ่นสอดใต้เหงือก เจลเคลือบฟัน หรืออื่นๆ ได้

2. เป็นการนำวัตถุดิบเหลือใช้ทางการเกษตรซึ่งมีปริมาณมากและหาได้ง่ายในประเทศไทยมาปรับปรุงให้เกิดประโยชน์ และเป็นการเพิ่มคุณค่าของวัตถุดิบทางการเกษตรในประเทศ

3. เป็นการศึกษาสารสกัดจากพืชหรือสมุนไพร เพื่อสร้างความรู้ใหม่ในเรื่องฤทธิ์ในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และความเป็นพิษต่อเซลล์ในช่องปาก อันอาจนำไปสู่การศึกษาพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ อีกต่อไป

4. โครงการวิจัยนี้เป็นความร่วมมือระหว่างคณะทันตแพทยศาสตร์และคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงเป็นการส่งเสริมความร่วมมือกันในการทำวิจัยเพื่อความก้าวหน้าในการทำวิจัยร่วมกันในอนาคต