ว ทันต จุฬาฯ 2551;31:193-200
CU Dent J. 2008;31:193-200

บทวิทยาการ
Original Article

ผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

สุธาภา ศรีอรุโณทัย ท.บ.[1]
ไพบูลย์ เตชะเลิศไพศาล ท.บ., Ph.D.[2]
พสุธา ธัญญะกิจไพศาล ท.บ., Ph.D.[3]
สุนันท์ พงษ์สามารถ ภ.บ., Ph.D.[4]

[1]นิสิตปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]ภาควิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[4]ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในห้องปฏิบัติการ

วัสดุและวิธีการ เตรียมสารกลุ่มทดลองโดยผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนลงในส่วนผงของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ ในอัตราส่วนร้อยละ 4.76 7.50 9.09 และ 12.50 โดยน้ำหนักตามลำดับ นำส่วนผงที่เตรียมไว้มาผสมกับส่วนเหลวตามอัตราส่วนและวิธีการที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด ใส่ในแม่แบบทองเหลืองรูปทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตรและสูง 2 มิลลิเมตร เพื่อหล่อชิ้นงานจำนวน 6 ชิ้นต่อกลุ่ม โดยกลุ่มควบคุมลบ คือ กลุ่มที่ไม่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน และกลุ่มควบคุมบวก คือ กลุ่มที่ผสมผงแอมพิซิลลินในอัตราส่วนร้อยละ 4.76 โดยน้ำหนัก จากนั้นทำการทดสอบผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ด้วยเทคนิคบรอทไดลูชัน โดยนำชิ้นงานที่ได้ในกลุ่มต่าง ๆ ใส่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อชนิดทริปติเคสซอยบรอทที่มีเชื้อสเตร็ปโต-ค็อกคัสมิวแทนส์จำนวน $1x10^5$ ซีพียู/มล. บ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 8 และ 24 ชั่วโมง นำมานับค่าจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธีการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการศึกษา ที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมง ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในอัตราส่วนร้อยละ 7.50 9.09 และ 12.50 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติประมาณร้อยละ 15 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($P < 0.05$) โดยที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ประมาณร้อยละ 5 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($P > 0.05$) ในขณะที่ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ในกลุ่มควบคุมลบและซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในอัตราส่วนร้อยละ 4.76 ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์

สรุป ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนอัตราส่วนร้อยละ 7.50 9.09 และ 12.50 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อบ่มเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

(ว ทันต จุฬาฯ 2551;31:193-200)

คำสำคัญ: *เจลพอลิแซ็กคาไรด์; ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์; เปลือกทุเรียน; ผลยับยั้งแบคทีเรีย; สเตร็ปโตค็อก-คัสมิวแทนส์*

บทนำ

ในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันชนิดติดแน่น (fixed appliance) ในกรณีที่ฟันมีวัสดุอุดฟันขนาดใหญ่ หรือฟันครอบที่ไม่สามารถติดเครื่องมือติดแน่นชนิดอื่นได้ และฟันหลังที่ต้องการการเชื่อมกับอุปกรณ์เสริม เช่น แนนซ์โฮลดิ้งอาซ (Nance holding arch) และทรานส์พาลาทัลอาซ (transpalatal arch) จำเป็นต้องใส่แถบรัดจัดฟัน (orthodontic band) โดยแถบรัดจัดฟันดังกล่าวต้องยึดติดกับตัวฟันด้วยซีเมนต์ (cement) ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ซีเมนต์ซิงค์ฟอสเฟต (zinc phosphate cement) ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ (glass ionomer cement) และซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (resin-modified glass ionomer cement)[1,2]

ปัญหาใหญ่ที่พบจากการใช้แถบรัดจัดฟันและแบร็กเกต (bracket) ยึดบนตัวฟัน คือ การที่ผู้ป่วยไม่สามารถทำความสะอาดช่องปากได้อย่างทั่วถึงและเพียงพอ โดยเฉพาะบริเวณรอบแถบรัดจัดฟันและแบร็กเกต ทำให้ผิวฟันบริเวณดังกล่าวมีโอกาสเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) เกิดเป็นรอยโรคฝ้าขาว (white spot lesion) หรือรูผุ (cavity) ได้ถึงประมาณร้อยละ 50[3] โดยแบคทีเรียที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดฟันผุ คือ สเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ *(Streptococcus mutans)*[4,5] ดังนั้นหากสามารถกำจัดหรือลดจำนวนเชื้อชนิดนี้ลงได้ น่าจะส่งผลให้อัตราการเกิดโรคฟันผุในบริเวณดังกล่าวลดลง

จากปัญหาดังกล่าว จึงได้มีกลุ่มนักวิจัยคิดค้นพัฒนาซีเมนต์ที่ใช้ในการยึดติดเครื่องมือทันตกรรมจัดฟันชนิดติดแน่นให้มีคุณสมบัติพิเศษในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และป้องกันฟันผุ เช่น การผสมไบโอแอกทีพกลาส (bioactive glass, S53P4) ในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์[6] หรือการผสมสารคลอร์เฮ็กซิดีน (chlorhexidine) ในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์[7,8] อย่างไรก็ตาม คลอร์เฮ็กซิดีนมีผลให้เกิดคราบสีบนตัวฟัน อาการแพ้ การเกิดลิ้นฝ้าขน (hairy tongue) ดังนั้นสารจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ก็น่าจะเป็นทางเลือกที่น่าสนใจอีกทางหนึ่ง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า สมุนไพรไทยหลายชนิด เช่น สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร[9] ใบข่อย[10] ใบฝรั่ง[11] เปลือกมังคุด[12] เป็นต้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันไปตามชนิดของสารสกัด ในปี พ.ศ. 2541 คณะผู้วิจัย[13] ได้สกัดเจลพอลิแซกคาไรด์จากส่วนเปลือกของทุเรียน *(Durio zibethinus L.)* และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดังกล่าวพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบและชนิดแกรมบวก ได้แก่ เชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์[14,15] และเชื้อแอกกริเกทิแบกเทอร์แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ *(Aggregatibacter actinomycetemcomitans)*[15] ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคฟันผุ และโรคปริทันต์ ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ

เติบโตและทำลายเชื้อดังกล่าวขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการบ่ม และความเข้มข้นของเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน โดย Saladyanant และคณะ[15] พบว่า เจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่ความเข้มข้น 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ และเชื้อแอกกริเกทิแบกเทอร์แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ตามลำดับ ในเวลา 1 นาที

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดที่จะนำเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่ได้รับการทดสอบแล้วว่ามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้มาประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมจัดฟัน โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานำร่องครั้งนี้เพื่อทดสอบผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโต-ค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิ-แซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนด้วยการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ

วัสดุและวิธีการ

การเตรียมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

สารเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ได้เตรียมและพิสูจน์เอกลักษณ์ตามที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้[13] นำเจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มาบดและผ่านตะแกรงที่มีความละเอียด 180 ไมโครเมตร และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมซีเมนต์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและการเตรียมชิ้นงาน

นำเจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่เตรียมไว้ผสมกับส่วนผงของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ (HY-BOND GLASIONOMER CX, SHOFU INC., Lot no. PN1190, Kyoto, Japan) ด้วยอัตราส่วนร้อยละ 4.76 7.50 9.09 และ 12.50 โดยน้ำหนัก สำหรับกลุ่มควบคุมลบใช้ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ไม่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์ และใช้ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมแอมพิซิลลิน (Ampicillin) อัตราส่วนร้อยละ 4.76 เป็นกลุ่มควบคุมบวก ทำการเตรียมชิ้นงานในตู้ปราศจากเชื้อ (Biohazard Class II) กลุ่มละ 6 ชิ้น โดยผสมส่วนผงและส่วนเหลวของซีเมนต์ตามสัดส่วนและวิธีการผสมที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด เทลงในแม่แบบทองเหลืองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และสูง 2 มิลลิเมตร ปิดทับด้านบนและล่างด้วยแผ่นสไลด์แก้ว (glass slide) รอจนวัสดุแข็งตัวเป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนแกะจากแม่แบบ

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์สายพันธุ์ ATCC 25175 ทำการเตรียมเชื้อ โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อไมติสซาไลวาเรียส (Mitis salivarius agar) เพื่อให้ได้เชื้อเป็นคอโลนีเดี่ยว (single colony) จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อชนิดทริปติเคสซอยบรอท (Trypticase Soy Broth, Difca®, Becton Dickinson and company, France) และนำไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อนำมาใช้เป็นเชื้อตั้งต้นนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 แมคฟาร์แลนด์ (McFarland) หลังจากนั้นนำมาเจือจางด้วยเทคนิคบรอทไดลูชัน (broth dilution technique) จนได้เชื้อเริ่มต้น 1 x 10^5 ซีเอฟยู/มล.(CFU/ml;colony forming unit per millilitre)

การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ป-โตค็อกคัสมิวแทนส์ด้วยซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

นำชิ้นงานที่เตรียมไว้ในขั้นแรก ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อทริปติเคสซอยบรอทที่มีเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 1 x 10^5 ซีเอฟยู/มล. นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนของก๊าซคาร์บอนได-ออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องสั่น (vibrator) ในแนวราบ เมื่อครบกำหนดเวลา 4 8 และ 24 ชั่วโมง นำเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกผลและแสดงผลจำนวนคอโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในเวลาต่างๆ ในรูปของค่าเฉลี่ย log ซีเอฟยู/มล.

สถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมเอสพีเอสเอส บนเครื่องคอมพิวเตอร์ระบบปฏิบัติการวินโดวส์ (SPSS for Windows, version 13.0) ด้วยการทดสอบความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และทำการทดสอบต่อด้วย

การทดสอบเชิงซ้อนบอนเฟอร์โรนี (Bonferroni test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา

ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์

จากผลการทดลอง ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมลบ ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่ชิ้นซีเมนต์ (ตารางที่ 1) เมื่อบ่มที่ 4 ชั่วโมงพบว่า เชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ในกลุ่มควบคุมลบและในอาหารเลี้ยงเชื้อมีจำนวนเท่ากับ 1.9×10^5 ซีเอฟยู/มล. และ 1.6×10^5 ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ ที่ 8 ชั่วโมงพบจำนวนเชื้อเท่ากับ 2×10^6 ซีเอฟยู/มล. และ 3.4×10^6 ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ และที่ 24 ชั่วโมงพบจำนวนเชื้อเท่ากับ 2.1×10^7 ซีเอฟยู/มล. และ 5.0×10^7 ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ

ผลการยับยั้งเชื้อของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์และซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมแอมพิซิลลิน

เมื่อบ่มเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์อัตราส่วนร้อยละ 7.50 9.09 และ 12.50 โดยน้ำหนัก มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *($P < 0.05$)* ได้ร้อยละ 13.86 16.17 และ 14.63 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ในขณะที่กลุ่มควบคุมบวกที่ผสมแอมพิซิลลินอัตราส่วนร้อยละ 4.76 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *($P < 0.05$)* ได้ร้อยละ 14.20 เมื่อบ่มเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และทำลายเชื้อได้ร้อยละ 100 เมื่อบ่มเป็นเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง (รูปที่ 1)

วิจารณ์

จากการศึกษาที่ผ่านมา การเติมสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรีย เช่น ไบโอแอคทีพกลาส[6] หรือคลอร์เฮ็กซิดีน[7,8] ลงในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ ทำให้ซีเมนต์ผสมดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในนำเอาเจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นสารสกัดจากเปลือกทุเรียนธรรมชาติ และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียมาทดลองผสมลงในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ใช้ยึดแถบรัดจัดฟัน โดยคาดหวังผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์ผสมดังกล่าวเพื่อการลดอัตราการเกิดโรคฟันผุ

จากการศึกษานี้ พบว่า ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ใช้ยึดแถบรัดจัดฟันเป็นซีเมนต์ที่ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vokus และคณะ[16] ที่ศึกษาด้วยวิธีวัดบริเวณยับยั้งเชื้อ

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ log (CFU/ml) ของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ (กลุ่มควบคุมลบ) เปรียบเทียบกับในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อทริปติเคสซอยบรอท (TSB) ที่ 4 8 และ 24 ชั่วโมง

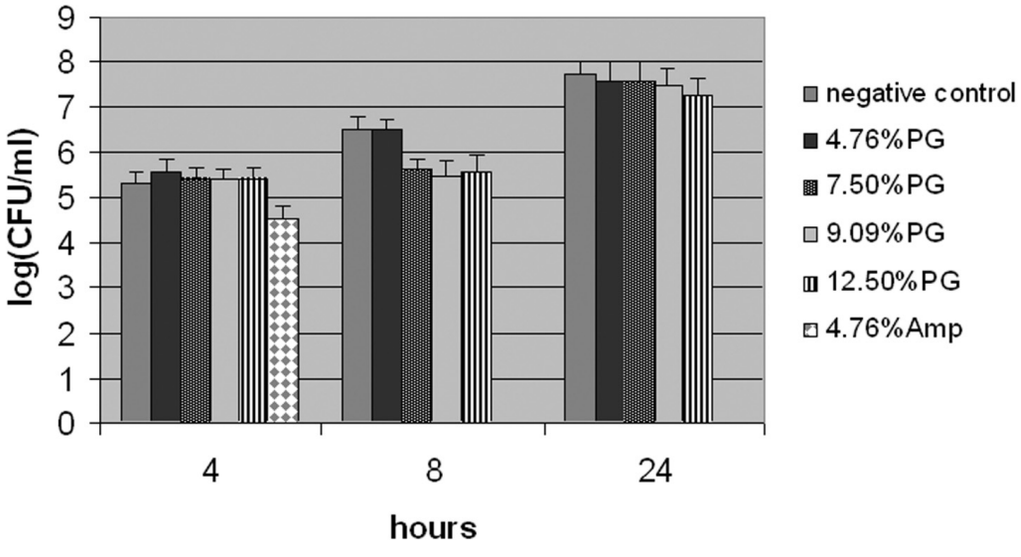
Table 1 Mean and standard deviation of log of *S. mutans* survival numbers in glass-ionomer cement group (negative control) compared with trypticase soy broth (TSB) group at 4, 8 and 24 hours

Incubation Time (hours)	Mean ± Standard Deviation (log_{10}CFU/ml)	
	***S. mutans* + glass ionomer cement**	***S. mutans* + TSB**
4	5.28 ± 0.21	5.21 ± 0.18
8	6.53 ± 0.24	6.31 ± 0.30
24	7.69 ± 0.39	7.33 ± 0.42

(inhibition zone) ของซีเมนต์ที่ใช้ยึดติดแถบรัดจัดฟันชนิดต่างๆ ต่อเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ พบว่าซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์สำหรับยึดติดแถบรัดจัดฟันไม่มีผลยับยั้งเชื้อชนิดนี้ในช่วงเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

สำหรับซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนอัตราส่วนร้อยละ 7.50 9.09 และ 12.50 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ประมาณร้อยละ 15 เมื่อบ่มเป็นเวลา 8 ชั่วโมง อาจเป็นผลที่เกิดจากเจลพอลิแซ็กคาไรด์บริเวณผิวของชิ้นซีเมนต์ที่ละลายออกมาจนถึงระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อในช่วงดังกล่าว ส่วนในระยะเวลา 4 ชั่วโมงนั้นเจลพอลิแซ็กคาไรด์บริเวณผิวของชิ้นซีเมนต์อาจละลายออกมาได้ไม่เพียงพอที่จะยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ และเมื่อบ่มต่อไปจนถึงเวลา 24 ชั่วโมง เจลพอลิแซ็กคาไรด์จากชิ้นซีเมนต์ไม่สามารถละลายออกมาเพิ่มได้อีก ส่งผลทำให้ความเข้มข้นของเจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายจากพื้นผิวไม่เพียงพอที่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อตามระยะเวลา ส่วนซีเมนต์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์อัตราส่วนร้อยละ 4.76 ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ทุกช่วงเวลา เป็นไปได้ว่าปริมาณเจลพอลิแซ็กคาไรด์บริเวณผิวของชิ้นซีเมนต์ที่สามารถละลายออกมาน้อยเกินกว่าที่จะให้ผลยับยั้งเชื้อดังกล่าว

ในการศึกษาครั้งนี้ การผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์กับส่วนผงของซีเมนต์ใช้อัตราส่วนสูงสุดไม่เกินร้อยละ 12.5 เนื่องจากซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์จะสูญเสียความสามารถในการแข็งตัว[17,18] เนื่องจากชิ้นงานทดลองมีน้ำหนักรวมประมาณ 40 มิลลิกรัม ดังนั้นเจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผสมในแต่ละชิ้นงานจึงมีค่าไม่เกิน 5 มิลลิกรัม เมื่อคำนึงถึงความสามารถในการละลายของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่มีค่าร้อยละ 0.17-0.29[19] ทำให้เจลพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายออกมาจากชิ้นซีเมนต์มีปริมาณน้อย และส่งผลทำให้ความเข้มข้นไม่เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้[14,15]



รูปที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ log (CFU/ml) ของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน (PG) อัตราส่วนร้อยละ 4.76 7.50 9.09 และ 12.50 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (negative control) และกลุ่มที่ผสมแอมพิซิลลิน (Amp) อัตราส่วนร้อยละ 4.76 (กลุ่มควบคุมบวก) ที่เวลา 4 8 และ 24 ชั่วโมง

Fig. 1 Mean and standard deviation of log of *S. mutans* survival numbers in glass-ionomer cement with 4.76, 7.50, 9.09 and 12.50 percent of polysaccharide gel from durian fruit-hulls (PG) compared with negative control and positive control with 4.76 percent ampicillin (Amp) at 4, 8 and 24 hours

จากการศึกษาของ Don และคณะ[20] พบกรดพอลิอะคริลิก (polyacrylic acid) ที่อยู่ในส่วนเหลวของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์สามารถย่อยสลายสารพอลิแซ็กคาไรด์กลุ่มไคโตซาน (Chitosan) เมื่อพิจารณาลักษณะโครงสร้างของเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนพบมีองค์ประกอบและ การเรียงตัวของกลุ่มน้ำตาลที่ใกล้เคียงกับไคโตซาน[13] จึงมีความเป็นไปได้ที่ส่วนเหลวของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์นั้น คือ กรดพอลิอะคริลิกสามารถย่อยสลายเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนทำให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียได้

สำหรับกลุ่มควบคุมบวก คือ ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมแอมพิซิลลินอัตราส่วนร้อยละ 4.76 พบว่า มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 4 ชั่วโมง และทำลายเชื้อที่ 8 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sandoe และคณะ[21] ที่พบว่าแอมพิซิลลินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ได้ จากการทดลองพบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อของเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนน้อยกว่าแอมพิซิลลินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อคำนึงถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อของเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเปรียบเทียบกับสารอื่นที่ได้ทดลองใส่ในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ จากการศึกษาของ Ribeiro และ Ericson[7] ที่ศึกษาโดยผสมคลอร์เฮ็กซิดีนในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ในอัตราส่วนร้อยละ 1.3 2.6 3.4 7.7 และ 10 โดยน้ำหนัก พบว่าในแต่ละอัตราส่วนดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัสมิวแทนส์เป็นเวลา 6 7 14 14 และ 15 วัน ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธีบรอทไดลูชั่น ในขณะที่ Yli-Urpo และคณะ[6] พบว่าซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมไบโอแอคทีพกลาสในอัตราส่วนร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตคอกคัสมิวแทนส์ เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคบรอทไดลูชั่น ดังนั้นจึงประเมินได้ว่าเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์สูงกว่าไบโอแอกทีพกลาส แต่ต่ำกว่าคลอร์เฮ็กซิดีน

จากผลการศึกษานำร่องครั้งนี้ คณะผู้วิจัยพบว่า การนำเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนผสมลงในซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์โดยตรงอาจมีความไม่เหมาะสม เนื่องจากเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารกึ่งบริสุทธิ์ที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส แรมโนส อราบิโนส และเกลือแร่ต่างๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม โปแตสเซียม และโซเดียม เป็นต้น[13] ดังนั้นต้องใช้สารนี้ในปริมาณมาก ทำให้เสียคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานทางกายภาพของซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์[17] ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพื่อสกัดเฉพาะสารออกฤทธิ์หลักในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ของเจลพอลิแซ็กคาไรด์ หรือการใช้สารอื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตทำลายเชื้อแบคทีเรีย และมีความเข้ากันได้กับซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์

สรุป

ซีเมนต์กลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในอัตราส่วนร้อยละ 7.50 9.09 และ 12.50 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัสมิวแทนส์ได้ร้อยละ 13.86 16.17 และ 14.63 ตามลำดับ เมื่อบ่มเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศ. (พิเศษ) ทญ. ดร. วิสาขะ ลิ่มวงศ์ และ รศ. ทญ. ดอลลี่ เมธาธราทิป รศ. ชัยรัตน์ วิวัฒน์วรพันธ์ อ. ทญ. นวภรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์ อ.ทญ.สุวิมล เจตนาเชี่ยวชาญกิจ และ อ. ศนิ บุญญกุล ที่กรุณาให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุน ขอขอบคุณภาควิชาทันตกรรมจัดฟัน ที่สนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบุคคลากร ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย รวมทั้งให้ความช่วยเหลือสาธิตวิธีการใช้อย่างละเอียด

เอกสารอ้างอิง

1. Sinha PK, Nanda RS. Fixed edgewise orthodontic appliances and bonding techniques. In: Bishara SE, editor. Textbook of orthodontics. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001:191-4.
2. Proffit WR, Fields HWJ. Contemporary fixed

appliances. In: Proffit WR, editor. Contemporary orthodontics. St. Louis Missouri: Mosby, 2000:391-7.

3. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. Am J Orthod. 1982;81(2):93-8.
4. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev. 1986;50(4): 353-80.
5. Fukui K, Fukui Y, Moriyama T. Purification and properties of dextransucrase and invertase from *Streptococcus mutans.* J Bacteriol. 1974;118(3): 796-804.
6. Yli-Urpo H, Närhi T, Söderling E. Antimicrobial effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4) on oral micro-organisms *in vitro.* Acta Odontol Scand. 2003;61(4):241-6.
7. Ribeiro J, Ericson D. *In vitro* antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. Scand J Dent Res. 1991;99(6):533-40.
8. Türkün LS, Türkün M, Ertuğrul F, Ates M, Brugger S. Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine-containing glass ionomer cement. J Esthet Restor Dent. 2008;20(1):29-44.
9. Sirirat M and Rojanapanthu P. The adjunctive use of *Andrographis paniculata* gel in periodontal treatment: report of 3 cases. Thai J Periodontol. 2003-2004;1:44-53.
10. Taweechaisupapong S, Singhara S, Choopan T. Antimicrobial effect of *Streblus asper* leaf extract on selected anaerobic bacteria. J Dent Assoc Thai. 2002;52(4):227-34.
11. Kraivaphan V, Kraivaphan P, Amornchat C, Triratana T, Pobrurksa C. The clinical effect of a mouthrinse containing *Psidium guajava* extract on plaque formation. J Dent Assoc Thai. 1994;44(2): 56-60.
12. Torrungruang K, Vichienroj P, Chutimaworapan S. Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans.* CU Dent J. 2007;30(1):1-10.
13. Pongsamart S, Panmaung T. Isolation of polysaccharides from fruit-Hulls of Durian *(Durio Zibethinus L.).* Songklanakarin J Sci Technol. 1998;20(3):323-32.
14. Musikapong P, Thunyakitpisal P, Pongsamart S. Antimicrobial activity of polysaccharide gel from durian fruit-hulls against *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans.* CU Dent J. 2005;28(2):137-44.
15. Saladyanant T, Hongprasong N, Pongsamart S, Apinhasmit W, Thunyakitpisal P. Polysaccharide gel from durian fruit-hull extracts: antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* CU Dent J. 2007;30(3):235-44.
16. Vokus RP, Cisneros GJ, Levi M. Antibacterial properties of current orthodontic band cements. Pediatr Dent. 1998;20(1):43-8.
17. ISO 9917-1. Dentistry water-based cements. Part 1: Powder/liquid acid-base cements. 2003.
18. Wilson AD, Mclean JW. Glass-ionomer cement. West Germany: Quintessence Publishing Co., Inc., 1988:43-51.
19. Toledano M, Osorio R, Osorio E, Fuentes V, Prati C, Garci;a-Godoy F. Sorption and solubility of resin-based restorative dental materials. J Dent. 2003;31(1):43-50.
20. Don TM, Chuang CY and Chiu WY. Studies on the degradation behavior of chitosan-g-poly (acrylic acid) copolymers. Tamkang Journal of Science and Engineering. 2002;5(4):235-40
21. Sandoe JA, Wysome J, West AP, Heritage J, Wilcox MH. Measurement of ampicillin, vancomycin, linezolid and gentamicin activity against enterococcal biofilms. J Antimicrob Chemother. 2006;57 (4): 767-70.

The antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* of glass-ionomer cement containing polysaccharide gel from durian fruit-hulls

Suthapar Sri-arunotai D.D.S.[1]
Paiboon Techalertpaisarn D.D.S., Ph.D.[2]
Pasutha Thunyakitpisal D.D.S., Ph.D.[3]
Sunan Pongsamart B.Sc. (Pharmacy), Ph.D.[4]

[1]Graduate Student, Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2]Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[3]Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[4]Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University

Abstracts

Objective To investigate the antimicrobial effect of glass-ionomer cement containing polysaccharide gel from durian fruit-hulls against *Streptococcus mutans in vitro.*

Materials and methods The powder mixtures of 4.76, 7.50, 9.09 and 12.50 percent by weight of polysaccharide gel from durian fruit-hulls and glass-ionomer cement were prepared as experimental groups. Then, the test substances were mixed with the liquid part following the manufacturer's instructions and poured in the cylindrical brass mold with 3 mm in diameter and 2 mm in height. Each group was composed of 6 specimens. Glass-ionomer cement alone was used as a negative control group, while a mixture of 4.76 percent by weight of ampicillin and glass-ionomer cement was used as a positive control group. The antimicrobial activity was determined by using the broth dilution technique. Each specimen was dropped in Trypticase Soy Broth contained with 1×10^5 CFU/ml of *S. mutans.* Subsequently, they were incubated at 37°C, 5% CO_2 for 4, 8 and 24 hours. Their survival numbers were evaluated in comparison to the control groups using the drop plate method.

Results At 8 hours incubation period, glass-ionomer cement with polysaccharide gel from durian fruit-hulls for 7.50, 9.09 and 12.50 percent established significant inhibitory effects (approximately 15 percent) against *S. mutans* ($P < 0.05$). At 24 hours, they had approximately 5 percent inhibitory effects against *S. mutans* ($P > 0.05$), whereas, glass-ionomer cement and glass-ionomer cement with 4.76 percent polysaccharide gel from durian fruit-hulls showed no inhibitory effect against *S. mutans.*

Conclusion The glass-ionomer cement with 7.50, 9.09 and 12.50 percent by weight polysaccharide gel from durian fruit-hulls for showed significant inhibitory effects against *S. mutans* at 8 hours incubation.

(CU Dent J. 2008;31:193-200)

Key words: *antimicrobial activity; durian fruit-hulls; glass-ionomer cement; polysaccharide gel; Streptococcus mutans*