ว ทันต จุฬาฯ 2548;28:137-44
CU Dent J. 2005;28:137-44

บทวิทยาการ
Original Article

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัย-ซีเทมโคมิแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน

ผกาวัลย์ มูสิกพงศ์ วท.บ.[1]
พสุธา ธัญญะกิจไพศาล D.D.S., Ph.D.[2]
สุนันท์ พงษ์สามารถ Ph.D.[3]

[1] ศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2] ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3] ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ในหลอดทดลอง

วัสดุและวิธีการ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิคบรอทไดลูชัน และการวิเคราะห์แบบไทม์คิลล์ โดยเลี้ยงเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อชนิดทริพติกซอยบรอท และเลี้ยงเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อชนิดเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ของเจลโพลีแซกคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน (1, 5, 10, 20 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลการยับยั้งเชื้อโดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง นำมานับค่าจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต โดยวิธีการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษา ความเข้มข้นต่ำสุดของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ที่มีผลยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ คือ 20 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ คือ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนระยะเวลาในการทำลายเชื้อพบว่า ปริมาณเชื้อลดลงจนเป็นศูนย์ เมื่อทดสอบด้วยเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

สรุป เจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ขณะที่ความเข้มข้นของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 20 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ตามลำดับ

(ว ทันต จุฬาฯ 2548;28:137-44)

คำสำคัญ: *ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ; เจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน; เชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์; เชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์*

บทนำ

ฟันผุและโรคปริทันต์ เป็นปัญหาสำคัญทางทันตสาธารณสุข[1] โดยเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นสาเหตุของการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ คือเชื้อจุลินทรีย์สเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ตามลำดับ[2-3] ถึงแม้ว่าการแปรงฟันอย่างถูกวิธีร่วมกับยาสีฟันที่มีส่วนผสมของฟลูออไรด์ การใช้เส้นใยขัดฟัน และการหมั่นไปตรวจสุขภาพช่องปากอย่างสม่ำเสมอ จะสามารถลดและควบคุมการเกิดโรคฟันผุและการเกิดโรคปริทันต์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เนื่องจากสภาวะที่เร่งรีบในชีวิตประจำวัน ผู้ป่วยที่มีปัญหาในการควบคุมกล้ามเนื้อและข้อมือในการทำความสะอาดฟันและช่องปาก ผู้ป่วยที่ไม่สามารถช่วยเหลือตนเองหรือมีปัญหาทางสภาวะจิต การหาอุปกรณ์เสริมช่วยในการทำความสะอาดช่องปาก เช่น น้ำยาบ้วนปากหรือหมากฝรั่ง เพื่อลดการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ ได้ถูกแนะนำขึ้นโดยหวังผลในการลดจำนวนหรือกำจัดเชื้อดังกล่าว โดยสารออกฤทธิ์หลักเป็นกลุ่มสารเคมี ได้แก่ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) หรือสารละลายแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ดี สารเหล่านี้อาจมีอาการแพ้หรือผลข้างเคียงเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน[4-5] ดังนั้น การค้นพบสารที่สกัดจากธรรมชาติที่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคดังกล่าว อาจนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

ปัจจุบันได้มีการนำสมุนไพร และสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในการดูแลรักษาสุขภาพช่องปาก เพื่อป้องกันโรคฟันผุและโรคปริทันต์มากขึ้น[6-7] ได้มีการรายงานผลการต้านเชื้อแบคทีเรียของเจลโพลีแซกคาไรด์ (Polysaccharide gel) ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน (Durio zhibethinus L.) พบว่าสามารถยับยั้งและทำลายได้ในทั้งแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus* และแกรมลบ *Escherichia coli, Proteus vulgaris*[8] โดยเจลโพลีแซกคาไรด์ มีส่วนประกอบของน้ำตาลกลูโคส อะราบิโนส ฟรุกโทส แรมโนส และกรดกาแลกโทรูนิค[9-11] จากการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและความเป็นพิษแบบต่อเนื่องในหนูขาวและหนูถีบจักร พบว่า หนูทดลองสามารถกินสารโพลีแซกคาไรด์ในครั้งเดียวในขนาดสูงถึง 2 กรัมต่อกิโลกรัม หรือให้กินระยะยาวติดต่อกัน 100 วัน ในขนาด 0.5 กรัม/กิโลกรัม/วัน โดยไม่มีความเป็นพิษที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย[12-13] ดังนั้น สารโพลีแซกคาไรด์ของเปลือกทุเรียนจึงเป็นสารที่น่าสนใจในการศึกษาผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ เพื่อนำสารธรรมชาติจากเปลือกทุเรียนมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันการเกิดโรคทั้งสองชนิดดังกล่าว

วัสดุและวิธีการ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718 โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อชนิดทริพติกซอยบรอท (Tryptic Soy Broth, TSB) และเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain Heart Infusion, BHI) ตามลำดับ และนำไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาใช้เป็นต้นเชื้อ โดยนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland

การเตรียมเจลโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียน[9-11]

สารเจลโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียน (Durio zibethinus L.) ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ภญ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการเตรียมสารเพื่อมาใช้ในการศึกษา เจลโพลีแซกคาไรด์จะเตรียมตามความเข้มข้นที่กำหนด โดยละลายในน้ำกลั่นและทำให้ปราศจากเชื้อด้วยตู้นึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยเจลโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนด้วยวิธีบรอทไดลูชัน (broth dilution test)

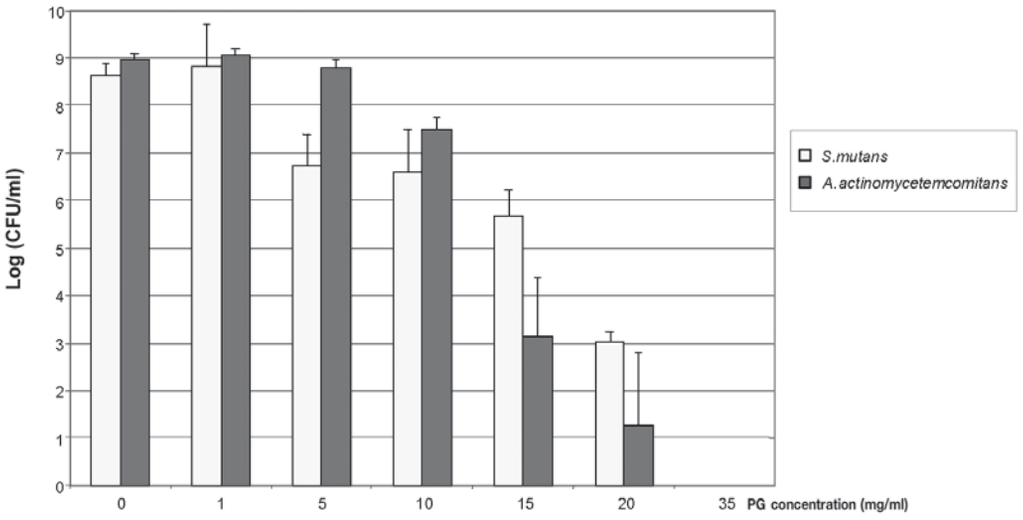
วิธีบรอทไดลูชันจะถูกดัดแปลงจาก Brock และคณะ[14] โดยย่อคือ เชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ จะถูกถ่ายลงในอาหาร TSB และ BHI ตามลำดับ ที่มีเจลโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในความเข้มข้นที่กำหนด คือ 0, 1, 5, 10, 15, 20 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้แต่ละหลอดมี

จำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือ 10^5 ซีเอฟยู (colony-forming units) ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเจลโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลทำลายเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) จากนั้นนำค่า MBC ที่ได้ไปทำการวิเคราะห์แบบไทม์คิลล์ (time kill analysis) เก็บผลการทดลองทุก ๆ 4 ชั่วโมง โดยการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยการเกลี่ยเชื้อบนจานอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อโดยใช้อาหารชนิดทริพติกซอย สำหรับเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และอาหารชนิดเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน สำหรับเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ โดยการทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

ผลการศึกษา

เจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์

จากการทดลองพบว่า จำนวนแบคทีเรียสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ ที่ทดสอบด้วยเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนเท่ากับ 4.15×10^8, 6.45×10^8, 5.34×10^6, 4.01×10^6, 4.50×10^5 และ 1.05×10^3 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่พบการเจริญของเชื้อเลยที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นมีค่า 10^5 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์ต่อการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์

Fig. 1 Antimicrobial activity of polysaccharide gel against *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans*

ส่วนเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ จากการทดลองพบว่า จำนวนแบคทีเรียที่ทดสอบด้วยเจลโพลี-แซกคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนเท่ากับ 9.32×10^8, 1.13×10^9, 6.17×10^8, 3.11×10^7, 1.36×10^3, 18 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นมีค่า 10^5 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 1)

ความสามารถของเจลโพลีแซกคาไรด์ ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5-10^8 มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน

จากการวิเคราะห์แบบไทม์คิลล์ พบว่า ที่เวลา 4 ชั่วโมง ประสิทธิภาพของทำลายเชื้อแบคทีเรีย สเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5, 10^7 และ 10^8 ซีเอฟยู

ต่อมิลลิลิตร คือ ร้อยละ 100, 99.9998 และ 99.9991 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ในขณะที่ประสิทธิภาพของทำลายเชื้อแบคทีเรีย แอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5, 10^7 และ 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร คือ ร้อยละ 100, 99.9995 และ 99.9991 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงผลการทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น I = 10^5, II = 10^7, III = 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)

Table 1 The effects of polysaccharide gel (35 mg/ml) on *S. mutans* (Initial inoculum I = 10^5, II = 10^7, III = 10^8 CFU/ml)

Incubation time (hours)	Percentage of dead bacteria		
	I	II	III
4	100	99.9998 ± 0.000173	99.9991 ± 0.000579
8	100	100	99.9999 ± 5.003×10^{-5}
12	100	100	100
16	100	100	100
20	100	100	100
24	100	100	100

Percentage of dead bacteria = (amount of $control_t$ – residual $bacteria_t$ /amount of $control_t$) × 100

t = Incubation time

ตารางที่ 2 แสดงผลการทำลายเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น I = 10^5, II = 10^7, III = 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)

Table 2 The effects of polysaccharide gel (35 mg/ml) on *A. actinomycetemcomitans* (Initial inoculum I = 10^5, II = 10^7, III = 10^8 CFU/ml)

Incubation time (hours)	Percentage of dead bacteria		
	I	II	III
4	100	99.9995 ± 0.000173	99.9991 ± 0.00085
8	100	99.9999 ± 4.358×10^{-5}	99.9999 ± 5.615×10^{-6}
12	100	100	99.9999 ± 4.925×10^{-6}
16	100	100	99.9999 ± 4.672×10^{-6}
20	100	100	99.9999 ± 4.5×10^{-6}
24	100	100	100

Percentage of dead bacteria = (amount of $control_t$ – residual $bacteria_t$ /amount of $control_t$) × 100

t = Incubation time

วิจารณ์

ในการศึกษาเบื้องต้นครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนในการทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่อาจก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ตามลำดับ พบว่า ความเข้มข้นของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายของเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ คือ 20 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนของเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ คือ 15 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ สุนันท์และคณะในปี 2544 ที่พบว่าเจลโพลีแซกคาไรด์มีผลทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ ได้แก่ *Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Lactobacillus pentosus, Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris*[10]

จากการวิเคราะห์แบบไทม์คิลล์ พบว่า ภายในเวลา 4 ชั่วโมงแรก เจลโพลีแซกคาไรด์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ทั้งสอง ถึงร้อยละ 99.999 – 100 เมื่อมีปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5 – 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเจลโพลีแซกคาไรด์มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อทั้งสอง อย่างไรก็ดีการศึกษาประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่มีต่อเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และ แอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากอื่น ๆ เช่น น้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน (chlorhexidine mouthwash) ในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม ในการนำเจลมาใช้ในงานทันตกรรมที่เกี่ยวข้อง เช่น หมากฝรั่ง และน้ำยาบ้วนปาก และการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์กับเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ ที่อาจก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ เช่น *Porphyromonas gingivalis* จึงเป็นสิ่งที่ควรจะทำการศึกษาคราวต่อไป

ถึงแม้การศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยไม่สามารถบอกกลไกของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนในการทำลายเชื้อทั้งสองชนิดได้ แต่จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง พบว่าเจลโพลีแซกคาไรด์มีส่วนประกอบและโครงสร้างของน้ำตาลใกล้เคียงกับสารไคโตซานซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย[15-16] โดยสารไคโตซานจะแทรกเข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรีย และมีผลรบกวนการอ่านรหัสของจีนทำให้ยับยั้งการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย[17] หรือเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างประจุของหมู่กรดอะมิโนในโมเลกุลไคโตซานกับประจุตรงข้ามบนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย[18-21] กลไกในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรียของเจลโพลีแซกคาไรด์อาจเกิดจากผลในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยจากการศึกษาของ Nantawanit ในปี 2001 พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย *E.coli* ที่ทดสอบกับเจลโพลีแซกคาไรด์ จะไม่พบพิไล (pili) หรือฟิมเบรีย (fimbriae) ที่ยื่นออกมาจากผนังเซลล์ เมื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด โดยพิไลเป็นส่วนของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การถ่ายทอดสารพันธุกรรม การยึดติดและการบุกรุกของเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์[23-24] นอกจากนี้ ความสามารถในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรียอาจเกิดจากประจุลบของสายน้ำตาลโพลีเมอร์ในเจลจับกับประจุบวกของสายน้ำตาลบนผิวของไลโปโพลีแซกคาไรด์ (lipopolysaccharide) ของเชื้อแกรมลบส่งผลรบกวนการทำงานของผนังเซลล์ หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียก็ได้ [25]

จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ แสดงได้ว่าเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และ แอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ ดังนั้น เจลโพลีแซกคาไรด์จึงนับได้ว่าเป็นสารที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์หลักที่มีผลต่อการป้องกันการเกิดฟันผุและโรคปริทันต์ต่อไป

สรุป

เจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายของเชื้อแบคทีเรีย สเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายของเชื้อแบคทีเรียแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ที่ระดับความเข้มข้น 15 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนที่ระดับความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นระหว่าง 10^5 – 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ในช่วง 4 ชั่วโมง อยู่ระหว่างร้อยละ 99.999 – 100

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ. ทญ. ดร. วิสาขะ ลิ่มวงศ์ และ ผศ. ทญ. ดอลลี่ เมธาธราธิป ที่ให้แนะนำในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชากายวิภาคศาสตร์ ศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ ที่สนับสนุนการทำงานวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนเพื่อการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2547 และ 2548

เอกสารอ้างอิง

1. คณะกรรมการทันตสุขภาพแห่งชาติ, กองทันตสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 5 พ.ศ. 2543-2544. กรุงเทพมหานคร: กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2545.
2. Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. Peridontol 2000. 1999;20:82-121.
3. Svanberg ML, Loesche WJ. Implantation of *Streptococcus mutans* on tooth surfaces in man. Arch Oral Biol. 1978;23:551-6.
4. Koshy G, Corbet EF, Ishikawa I. A full-mouth disinfection approach to non-surgical periodontal therapy-prevention of reinfection from bacterial reservoirs. Periodontol 2000. 2004;36:166-78.
5. Beaudouin E, Kanny G, Morisset M, Renaudin JM, Mertes M, Laxenaire MC, et al. Immediate hypersensitivity to chlorhexidine: literature review. Allerg Immunol. (Paris) 2004;36:123-6.
6. Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans.* Int J Antimicrob Agents. 2001;18:553-7.
7. Wongkham S, Laupattarakasaem P, Pienthaweechai K, Areejitranusorn P, Wongkham C, Techanitiswad T. Antimicrobial activity of Streblus asper leaf extract. Phytother Res. 2001;15:119-21.
8. Lipipun V, Nantawanit N, Pongsamart S. Antimicrobial activity (in vitro) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls. Songklanakarin J Sci Technol. 2002;24:31-8.
9. Pongsamart P, Panmaung T. Isolation of polysaccharide from fruit-hulls of durian *(Durio zibethnus L.).* Songklanakarin J Sci Technol. 1998;20:323-32.
10. สุนันท์ พงษ์สามารถ, วิมลมาศ ลิปิพันธ์, ธิติรัตน์ ปานม่วง, ไกรสีห์ อัมพรายน์, เครือวัลย์ เอกรักษาศิลป์ชัย, นิจศิริ เรืองรังษี. การพัฒนาสารโพลีแซกคาไรด์จากเปลือกของผลทุเรียนเพื่อใช้ในทางเภสัชกรรม รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร: 2544.
11. Hokputsa S, Gerddit W, Pongsamart S, Inngjerdingen K, Heinze T, Koschella A, et al. Watersoluble polysaccharides with pharmaceutical importance from Durian rinds *(Durio zibethinus Murr.):* isolation, fractionation, characterization and bioactivity. Carbohydrate Polymers. 2004;56:471-81.
12. Pongsamart S, Tawatsin A, Sukrong S. Long-term consumption of polysaccharide gel from durian fruit-hull in mice. Songklanakarin J Sci Technol. 2002;24:649-61.
13. Pongsamart S, Sukrong S, Tawatsin A. The determination of toxic effects at a high oral dose of polysaccharide gel extracts from fruit-hull of durian *(Durio zibethinus L.)* in mice and rats. Songklanakarin J Sci Technol. 2001;23:56-62.
14. Brock TD, Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Biology of microorganisms, 7th ed. NJ: Pentice Hall, Englewood Cloffs, 1994:118-24.
15. Muzzarelli R, Tarsi R, Filippini O, Giovanetti E, Biagini G, Varaldo PE. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. Antimicrob Agents Chemother. 1990;34:2019-23.
16. Senel S, McClure SJ. Potential application of chitosan in veterinary medicine. Advanced Drug Delivery Reviews. 2004;56:1467-80.
17. Hadwiger LA. Chitin in nature and technology. In: Muzzarelli, RAAA, Jeuniaux C, Goodney GW, editors, NY: Plenum Press, 1986:209.
18. Chen CS, Liau WY, Tsai GJ. Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobezoyl chitosan and application to oyster preservation. J Food Prot. 1998; 61:1124-8.

19. Sudarsha NR, Hoover DG, Knorr D. Antibacterial action of chitosan. Food Biotechnol. 1992;6:257-72.
20. Yong DH, Kohle H, Kauss. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured glycine max and Phaseouls vulgaris cells. Plant Physiol. 1982; 70:1449-54.
21. Yalpani M, Johnson F, Robinson LE. Antimicrobial activity of some chitosan derivatives. In:Brine CJ, editor.Advances in chitin and chitosan. New York: Elsverly Appied Science, 1992;543-8.
22. Nantawanit N. Antimicrobial property of polysaccharide gel from durian fruit-hulls [Thesis]. Bangkok: Chulalongkorn University, 2001.
23. Amano A, Nakagawa I, Okahashi N, Hamada N. Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. J Periodontal Res. 2004;39:136-42.
24. Ingraham LJ, Ingraham AC. Introduction to General microbiology 3th ed. CA: Thomson brooks/cole, 2004:93.
25. Neu TS, Dengler T, Jann B, Poralla K. Structural studies of an emulsion-stablizing exopolysacchaides produced by an adhesive, hydrophobic Rhodococcus strain. J Gen Microbial. 1992;138:2531-7.

Antimicrobial activity of polysaccharide gel from durian fruit-hulls against *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Phakawan Musikapong B.Sc.[1]
Pasutha Thunyakitpisal D.D.S., Ph.D.[2]
Sunanta Pongsamart Ph.D.[3]

[1] Oral Biology Research Center, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2] Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[3] Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University

Abstract

Objective To investigate the antimicrobial activity of polysaccharide gel (PG) extracted from fruit-hulls of durian against *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans, in vitro.*

Materials and methods An inhibitory activity was determined by using broth dilution technique and time kill analysis. *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans* were grown in Tryptic Soy Broth and Brain Heart Infusion, respectively. Both organisms were treated with different concentrations of PG (1, 5, 10, 20 and 35 mg/ml) in broth medium at 37°C, 5% CO_2 for 24 hours. Their survival were evaluated in comparison to the control using drop plate method.

Results The minimum inhibitory concentrations (MICs) of *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans* were 20 and 15 mg/ml, respectively, while the minimum bactericidal concentration (MBC) of *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans* was 35 mg/ml. Bacterial counts of both *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans* survival were declined to zero at 4 hours incubation in medium with 35 mg/ml PG.

Conclusion PG, at 35 mg/ml, revealed the bactericidal activities against both *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans.* PG, at 20 and 15 mg/ml, exhibited an inhibitory activities against *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans,* respectively.

(CU Dent J. 2005;28:137-44)

Key words: *Actinobacillus actinomycetemcomitans; minimum inhibitory concentrations (MICs); polysaccharide gel from friut-hull; Streptococcus mutans,*