ผลการยับยั้งเชื้อของน้ำลูกยอต่อ แอกติโนแบซิลลัส แอกติโนมัยซีเทมโคมีแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์

นางทัศนีย์ บุษราคัมรุหะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาปริทันตศาสตร์ ภาควิชาปริทันตวิทยา
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIMICROBIAL EFFECT OF *MORINDA CITRIFOLIA* JUICE ON *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* AND *CANDIDA ALBICANS*

Mrs.Tassanee Butsarakamruha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Periodontics
Department of Periodontology
Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University
Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลการยับยั้งเชื้อของน้ำลูกยอต่อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์
โดย	นางทัศนีย์ บุษราคัมรุหะ
สาขาวิชา	ปริทันตศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ถิรพัฒน์ เปรมศิรินิรันดร์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง อารีย์ เจนกิตติวงศ์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยอนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ฐิติมา ภู่ศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง อรอนงค์ วนิชจักร์วงศ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ถิรพัฒน์ เปรมศิรินิรันดร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง อารีย์ เจนกิตติวงศ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คูวัฒนสุชาติ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุพจน์ ตามสายลม)

ทัศนีย์ บุษราคัมรุหะ : ผลการยับยั้งเชื้อของน้ำลูกยอต่อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ (ANTIMICROBIAL EFFECT OF *MORINDA CITRIFOLIA* JUICE ON *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* AND *CANDIDA ALBICANS*) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ทพ.ถิรพัฒน์ เปรมศิรินิรันดร์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ทญ.อารีย์ เจนกิตติวงศ์ 75 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำลูกยอ ในการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ รวมถึงหาเวลาสัมผัสน้อยที่สุดและความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำลูกยอที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยใช้น้ำจากลูกยอมาทำให้แห้งด้วยความเย็นจนกลายเป็นผง นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในหลอดทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำลูกยอ และเวลาสัมผัสต่างๆ ผลการยับยั้งเชื้อได้จากการดูผลการเพาะเชื้อและการหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำลูกยอที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธีบรอธไดลูชัน

ผลการศึกษาพบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5 และ 7.5 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 45 นาที หรือ น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10, 12.5 และ 15 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำลูกยอที่สามารถทำลายเชื้อคือ 10 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที หรือ 5 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 45 นาที สำหรับแคนดิดา อัลบิแคนส์ นั้น น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 30 นาที หรือ 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที สามารถทำลายเชื้อได้ และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำลูกยอที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อคือ 40 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 90 นาที หรือ 50 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของน้ำลูกยอในการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อนั้นแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำลูกยอและเวลาสัมผัสเชื้อ

ภาควิชา ปริทันตวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ปริทันตศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2549 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

4776110732 : MAJOR PERIODONTICS
KEY WORD: ANTIMICROBIAL EFFECT / *MORINDA CITRIFOLIA* JUICE / *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* / *CANDIDA ALBICANS*

TASSANEE BUTSARAKAMRUHA : ANTIMICROBIAL EFFECT OF *MORINDA CITRIFOLIA* JUICE ON *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* AND *CANDIDA ALBICANS*. THESIS ADVISOR : ASST.PROF. THIRAPAT PREMSIRINIRUN, THESIS COADVISOR : ASSOC.PROF. AREE JAINKITTIVONG, 75 pp.

The objectives of this study were to investigate the antimicrobial effect of *Morinda citrifolia* juice on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Candida albicans* and to determine the minimum inhibitory concentration and minimum contact times. Juice extract from *Morinda citrifolia* fruit was lyophilized and used in the experiment. Antimicrobial activities of *Morinda citrifolia* extract against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Candida albican*s were tested in vitro at various concentrations and contact times. The inhibitory effects of *Morinda citrifolia* extract on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Candida albican*s were determined by cultures and Broth Dilution Test.

No growth of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was observed with 5 and 7.5 mg/ml of extract at 45 minutes or with 10, 12.5 and 15 mg/ml of extract at 15 minutes. The minimum bactericidal concentration of extract against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was 10 mg/ml at 15 minutes or 5 mg/ml at 45 minutes. No growth of *Candida albicans* was observed with 50 mg/ml of extract at 30 minutes or with 60 mg/ml of extract at 15 minutes. The minimum inhibitory concentration of extract against *Candida albicans* was 40 mg/ml at 90 minutes or 50 mg/ml at 15 minutes.

The results of this study confirmed that *Morinda citrifolia* juice had an antimicrobial effect on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Candida albicans* and the inhibitory effect varied with the concentration and contact time.

Department PERIODONTOLOGY Student's signature .....
Field of study PERIODONTICS Advisor's signature .....
Academic year 2006 Co-advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผศ.ทพ.ถิรพัฒน์ เปรมศิรินิรันดร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ทญ.อารีย์ เจนกิตติวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และคำติชมที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนกำลังใจในการเขียนและการแก้ไข จนกระทั่งงานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ ผู้เขียนวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ วัสดุ อุปกรณ์การวิจัย รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยในห้องปฏิบัติการ และขอขอบพระคุณ ผศ.ทญ.พัชรา พิพัฒนโกวิท อ.ทญ.ดร.อรนาฏ มาตังคสมบัติ และคุณวันเพ็ญ ซินเฮง ที่ให้คำแนะนำต่างๆ ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ทพ.ดร.กิตติ ต.รุ่งเรือง ที่เอื้อเฟื้อเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ สำหรับงานวิจัย รวมทั้งคำแนะนำและข้อชี้แนะที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบพระคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์การเตรียมน้ำลูกยอ

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่เสียสละเวลาช่วยชี้แนะและแก้ไขวิทยานิพนธ์เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่องานวิจัยสูงสุด

ขอขอบคุณคุณชัยวัฒน์ จิระฤทธิ์ธำรง นักวิทยาศาสตร์ของภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ สำหรับใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณทันตแพทย์ จารุวัฒน์ บุษราคัมรุหะ ที่คอยสนับสนุนและให้ความช่วยเหลือในการพิมพ์และจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนได้รูปเล่มที่สมบูรณ์

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณมารดาของผู้ทำการวิจัย ที่คอยดูแลและเป็นกำลังใจให้ผู้ทำการวิจัยมีพลังในการทำงานตลอดมา ซึ่งคุณประโยชน์และคุณงามความดีที่เกิดจากผลงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้แด่ผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งที่ได้กล่าวนามและไม่ได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญภาพ ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
คำถามการวิจัย 3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
สมมติฐานของการวิจัย 3
รูปแบบการวิจัย 3
กรอบแนวคิดการวิจัย 3
ขอบเขตของการวิจัย 4
ข้อจำกัดในการวิจัย 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5
สมุนไพรคืออะไร 5
ลูกยอ (*Morinda Citrifolia* Linn.) 6
สรรพคุณ 7
คุณสมบัติทางชีวภาพและเภสัชวิทยากับงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ 8
การศึกษาความเป็นพิษ 10
ความสำคัญของเชื้อที่นำมาศึกษา 11
แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 11
จุลชีววิทยาของเชื้อ 11
บทบาทของเชื้อในการเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคปริทันต์อักเสบรุกราน 13
การใช้ยาต้านจุลชีพกับการรักษาโรคปริทันต์ 14

หน้า

แคนดิดา อัลบิแคนส์ 15
จุลชีววิทยาของเชื้อ 15
ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดความรุนแรงของการเกิดโรคติดเชื้อรา
แคนดิดาในช่องปาก 16
ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อราแคนดิดา 18
ความสัมพันธ์ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์กับโรคปริทันต์อักเสบ 20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 22
วัสดุและสารในการวิจัย 22
อุปกรณ์การวิจัย 22
การเตรียมน้ำลูกยอ 23
การทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส
แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 23
การทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ 26
การวิเคราะห์ข้อมูล 28
บทที่ 4 ผลการวิจัย 29
การทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 29
การทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ 42
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 55
อภิปรายผลการวิจัย 55
สรุปผลการวิจัย 58
ข้อเสนอแนะ 58
รายการอ้างอิง 60
ภาคผนวก 69
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 75

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 1 แสดงสรรพคุณของส่วนต่างๆ ของยอที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ 8

ตารางที่ 2ก แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 1 29

ตารางที่ 2ข แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 2 30

ตารางที่ 2ค แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 3 31

ตารางที่ 3 แสดงผลสรุปการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง 32

ตารางที่ 4 แสดงผลการสังเกตความขุ่นและใสของน้ำลูกยอในหลอดทดลองที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่าง ๆ ของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 39

ตารางที่ 5ก แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 1 42

ตารางที่ 5ข แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 2 43

ตารางที่ 5ค แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 3 44

ตารางที่ 6 แสดงผลสรุปการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง 45

ตารางที่ 7 แสดงผลการสังเกตความขุ่นและใสของน้ำลูกยอในหลอดทดลอง ที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่าง ๆ ของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ 52

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า
ภาพที่ 1 แสดงภาพผลลูกยอ 7
ภาพที่ 2 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 2.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 33
ภาพที่ 3 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 5.0 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 34
ภาพที่ 4 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 7.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 35
ภาพที่ 5 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 10 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 36
ภาพที่ 6 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 12.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 37
ภาพที่ 7 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 15 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 38
ภาพที่ 8 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที ของ เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 40
ภาพที่ 9 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที ของ เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ 41
ภาพที่ 10 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 10 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 46
ภาพที่ 11 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 20 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 47
ภาพที่ 12 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 30 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 48
ภาพที่ 13 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 40 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 49
ภาพที่ 14 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 50 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 50
ภาพที่ 15 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 60 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น 51

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 16 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ 53
ภาพที่ 17 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 90 นาที ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ 54

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การรับประทานยาต้านจุลชีพ ซึ่งเป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะนั้น จำเป็นต้องใช้ในขนาดที่สูงเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในร่องเหงือกสูงพอจะยับยั้งเชื้อได้ ทั้งยังต้องใช้ติดต่อกันระยะหนึ่ง ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเสี่ยงต่อการได้รับอันตรายจากพิษของยาปฏิชีวนะเอง หรือพิษจากการได้รับยาปฏิชีวนะมากเกินได้ นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะอาจเกิดอาการแพ้ยาหรือได้รับผลข้างเคียงของยา ตลอดจนเป็นสาเหตุทำให้เกิดการติดเชื้อฉวยโอกาสต่างๆ และเกิดการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Gjermo, 1993) เช่น ยาเพนนิซิลลินเป็นยาต้านจุลชีพที่มีความเป็นพิษน้อยแต่มักจะทำให้เกิดการแพ้ยาได้บ่อย ส่วนใหญ่เป็นชนิดไม่รุนแรงคือเป็นผื่นผิวหนังในบริเวณศีรษะหรือลำคอ ถ้ารุนแรงขึ้นอาจทำให้เกิดปวดบวมที่ข้อ และรุนแรงที่สุดคือทำให้เกิดแอนาฟิแล็กซิส (anaphylaxis) คือเกิดผื่นแดง คัน หน้าแดง หลอดลมและกระเพาะลำไส้หดเกร็ง ความดันโลหิตต่ำ และอาจเสียชีวิตได้ ยาเตตราซัยคลีนอาจทำให้เกิดการปวดบริเวณกะบังลม คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อประจำที่อาศัยในลำไส้ แล้วเกิดการติดเชื้อรา และที่พบได้บ้างได้แก่ อาการไวต่อแสงอย่างผิดปกติ การเป็นพิษต่อไต ภาวะแรงดันสูงในน้ำไขสันหลัง เตตราซัยคลีนยังถูกสะสมในกระดูกและฟันทำให้กลายเป็นสีเหลืองด้วย ยาคลินดาไมซินอาจทำให้เกิดอาการผิดปกติของกระเพาะอาหารและลำไส้ ทำให้ท้องเสียและอาจเกิดผื่นผิวหนัง นอกจากนี้ยังทำให้เชื้อที่อาศัยประจำในลำไส้ลดจำนวนลงจึงไปเพิ่มจำนวนของเชื้อคลอสตริเดียม ดิฟฟิซายล์ (*Clostridium difficile*) มากขึ้น ทำให้เกิดการติดเชื้อของลำไส้ใหญ่อย่างรุนแรง ยาเมโทรนิดาโซลมักทำให้เกิดปัญหาของกระเพาะอาหารและลำไส้ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร มีรสชาติของโลหะ ลิ้นเป็นฝ้า ปวดศีรษะ และยังอาจทำให้เกิดความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลายได้ด้วย (Mombelli, 2002)

เช่นเดียวกันยาต้านเชื้อราส่วนใหญ่มีความเป็นพิษค่อนข้างสูง เช่น แอมโฟเทอริซิน บี สามารถจับกับเออร์โกสเตอรอล (ergosterol) ที่ผนังเซลล์ของเชื้อราทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความดันออสโมติก ทำให้ผนังเซลล์แตก จึงฆ่าเชื้อราได้แต่ก็มีผลกับเซลล์ของมนุษย์ในลักษณะเดียวกันด้วยเช่นกัน ยาคีโตโคนาโซลมีผลข้างเคียง ทำให้ลดการสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) และ คอร์ติซอล (cortisol) ของมนุษย์ นอกจากนั้นคีโตโคนาโซลยังมีปฏิกิริยาระหว่างยากับยาอื่น โดยอาจเสริมฤทธิ์ยาบางชนิด เช่น ยาต้านการแข็งตัวของเลือดวาร์ฟาริน (warfarin) ยาคอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroids) ยากดภูมิคุ้มกันพวกไซโคลสปอริน (cyclosporine) เป็นต้น การเสริมฤทธิ์ยาอื่น เกิดจากการที่ยาคีโตโคนาโซลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในการทำลายยาเหล่านั้น ส่งผลให้ปริมาณยาในเลือดสูงกว่าปกติและทำให้ผลข้างเคียงของยาเหล่านั้นเพิ่มขึ้นจนอาจเกิดอันตรายได้

จากการที่ยาแผนปัจจุบันต่างๆ มักมีผลข้างเคียงดังกล่าวมาแล้ว ทำให้เกิดกระแสนิยมที่พยายามจะนำพืชสมุนไพร มาใช้รักษาโรคทดแทนยาแผนปัจจุบัน โดยนับตั้งแต่แผนพัฒนาสาธารณสุขฉบับที่ 4 ถึงแผนพัฒนาสาธารณสุขฉบับที่ 7 รัฐบาลไทยได้มีนโยบายสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากสมุนไพร และการแพทย์แผนไทยอย่างต่อเนื่อง เพราะสมุนไพรเป็นเทคโนโลยีพื้นบ้านที่สำคัญในการดูแลรักษาสุขภาพตนเองของประชาชน และเป็นวิทยาการที่เหมาะสมในงานสาธารณสุขมูลฐาน เนื่องจากสมุนไพรสามารถปลูกและเตรียมเป็นยาใช้ได้เอง จึงมักจะมีราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบัน ช่วยประหยัดเงินตราของประเทศในการนำเข้ายาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศ นอกจากนี้อาการพิษหรือผลข้างเคียงที่เกิดจากสมุนไพรมักพบได้น้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน (วันดี กฤษณพันธ์, 2537) ในต่างประเทศมีการศึกษาวิจัยสมุนไพรเพื่อพิสูจน์ทราบฤทธิ์ต้านจุลชีพกันมาก และในปัจจุบันในประเทศไทยก็มีการศึกษาวิจัยสมุนไพรพื้นบ้านเพื่อพิสูจน์ทราบฤทธิ์ต้านจุลชีพเช่นกัน (โชติกา บุญหลง อัมพร คุณเอนก และ จารีย์ บันสิทธิ์, 2544; ปัทมาวดี เสตะกัณณะ จารีย์ บันสิทธิ์ และ ธิดารัตน์ บุญรอด, 2545)

ยอเป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้เพื่อประโยชน์ในทางการแพทย์มาตั้งแต่อดีตแล้ว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Morinda citrifolia* Linn. เป็นที่รู้จักกันดีในแถบหมู่เกาะโปลีนีเซียนและฮาวายในชื่อ โนนิ (Noni) ชาวโปลีนีเซียใช้ลูกยอดิบในการรักษาโรคในช่องปาก และใช้ลูกยอสุกในการรักษาแผลติดเชื้อภายนอกช่องปาก บริเวณแขนและขา (McClatchey, 2002) น้ำลูกยอสามารถรักษาอาการปวดฟัน หรือเจ็บเหงือกได้ด้วย (Cambie และ Ash, 1994) โดยสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบในลูกยอ เช่น สโคโปเลติน (scopoletin) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ (Duncan, 1998) และยังมีสารประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิดในลูกยอที่พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราแคนดิดาได้ (อาภรณ์ เจริญพิริยะ, 2545)

โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคในช่องปากที่สำคัญโรคหนึ่ง ทำให้เกิดการสูญเสียกระดูกเบ้าฟัน ทำให้ฟันโยกจนสูญเสียฟันไปในที่สุด สาเหตุของโรคนั้นเกิดจากเชื้อแบคทีเรียในแผ่นคราบจุลินทรีย์ซึ่งเกาะติดกับผิวรากฟันได้แก่ เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่เป็นเชื้อก่อโรคปริทันต์ที่สำคัญ เพราะสามารถผลิตปัจจัยความรุนแรงของจุลชีพได้หลายชนิด ทำให้เกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์อย่างรุนแรง ดังที่พบในโรคปริทันต์อักเสบรุกราน นอกจากนี้อาจพบเชื้อราแคนดิดาได้ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกและในร่องลึกปริทันต์ (Slots, Rams และ Listgarten, 1988) โดยมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของเชื้อราแคนดิดากับโรคปริทันต์อักเสบ ว่าอาจมีบทบาทต่อการดำเนินโรคปริทันต์อักเสบด้วยเช่นกัน (Slots และคณะ, 1988) ปกติแล้วเชื้อราแคนดิดาอาจพบในช่องปากของคนที่มีสุขภาพดีได้ โดยบุคคลนั้นไม่ปรากฏอาการแสดงและมีอาการของการติดเชื้อรา (Arendorf และ Walker, 1979) แต่สามารถพบการติดเชื้อราแคนดิดาได้บ่อยในผู้ที่ใส่ฟันปลอมแต่ดูแลสุขภาพช่องปากไม่ดี ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยภูมิต้านทานต่ำ ผู้ได้รับยาที่มีผลข้างเคียงทำให้ปากแห้ง หรือผู้ได้รับยาปฏิชีวนะต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน โดยเชื้อราแคนดิดาที่เป็นสาเหตุส่วนใหญ่พบว่าเป็นชนิด แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*)

(Krogh และคณะ, 1987; Leung และคณะ, 2000; Lundstrom และคณะ, 1984; Stenderup, 1990)

จากคุณสมบัติของน้ำลูกยอดังกล่าวมาแล้วนั้น จึงนำมาซึ่งแนวความคิดที่จะนำน้ำลูกยอมาศึกษาผลการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับผลของน้ำลูกยอในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้มาก่อน

คำถามการวิจัย

1. น้ำลูกยอมีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ หรือไม่
2. น้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสเท่าไรที่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในหลอดทดลอง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำลูกยอ ในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์
2. เพื่อหาเวลาสัมผัสที่น้อยที่สุด และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำลูกยอ ที่สามารถยับยั้งการเจริญ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) หรือทำลายเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ของเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในหลอดทดลอง

สมมติฐานของการวิจัย

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้นหนึ่งมีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดที่กำหนดคือ 15 นาที

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยโดยการทดลองทางห้องปฏิบัติการในหลอดทดลอง

กรอบแนวคิดการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการทดลองในหลอดทดลอง เพื่อหาความเข้มข้นและเวลาสัมผัสของน้ำลูกยอ ที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์

ข้อจำกัดในการวิจัย

ลูกยอที่นำมาใช้ในการวิจัยนี้ไม่ได้มาจากแหล่งเดียวกันทั้งหมด และในการทดลองนี้ใช้น้ำลูกยอในลักษณะของสารสกัดรวมโดยมิได้แยกส่วนเป็นสารประกอบบริสุทธิ์ ฉะนั้นปริมาณของส่วนประกอบของน้ำลูกยอโดยธรรมชาติในการเตรียมสำหรับการทดลองแต่ละครั้งอาจมีความแตกต่างกันได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลการยับยั้งเชื้อและความเข้มข้นของน้ำลูกยอ ที่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์
2. ในอนาคตอาจสามารถพัฒนาน้ำลูกยอ ไปใช้ประโยชน์เป็นผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรม เพื่อการยับยั้งหรือทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในช่องปาก เช่น ในรูปแบบน้ำยาบ้วนปาก ผสมในยาสีฟัน หรือใช้เป็นน้ำยาฉีดล้างในร่องลึกปริทันต์ เป็นต้น

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมุนไพรคืออะไร

คำว่า สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 หมายความถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ ซึ่งยังมิได้มีการผสม ปรุง หรือแปรสภาพ (ยกเว้นการทำให้แห้ง) เช่น พืชก็ยังคงเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก และผล ยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใดๆ จากการหั่น การบด การกลั่น การสกัดแยก รวมทั้งการผสมกับสารอื่นๆ แต่ในทางการค้าสมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปแบบต่างๆ เช่น ถูกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กลง บดให้เป็นผง อัดให้เป็นแท่ง หรือปอกเปลือกออก เป็นต้น อย่างไรก็ตามในความรู้สึกของคนทั่วๆ ไป เมื่อพูดถึงสมุนไพรมักจะนึกถึงเฉพาะต้นไม้ที่นำมาใช้ประโยชน์ในทางยา ทั้งนี้เพราะสัตว์และแร่มีการใช้น้อย จะใช้เฉพาะในโรคบางชนิดเท่านั้น

สมุนไพรนอกจากจะใช้เป็นยาแล้ว บางชนิดยังใช้ประโยชน์ในแง่ที่เป็นอาหารได้อีกด้วย เช่น ฝรั่ง เป็นผลไม้ที่มีวิตามินซีสูงและให้กากใย ขณะเดียวกันก็สามารถใช้แก้ท้องเสียชนิดที่ไม่ได้เกิดมาจากการติดเชื้อได้อีกด้วย ขิง ใช้เป็นอาหารและใช้เตรียมเป็นเครื่องดื่ม และยังสามารถใช้เป็นยาขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อได้ กระเทียม ใช้ในการปรุงอาหาร มีฤทธิ์ขับเหงื่อ ขับเสมหะและฆ่าเชื้อโรค มะขามเปียก ใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ และมีฤทธิ์ช่วยทำให้อุณหภูมิของร่างกายลดลง เป็นต้น นอกจากนี้สมุนไพรอาจนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของเครื่องสำอาง เช่น มะกรูด ช่วยทำให้ผมดกดำและผมนิ่ม มะนาว ช่วยให้ผิวนุ่ม แตงกวา ช่วยบำรุงผิว เป็นต้น ในทางตรงกันข้ามสมุนไพรบางชนิดมีพิษต่อร่างกาย ถ้าใช้ในขนาดสูงเกินไป หรือใช้อย่างไม่ถูกวิธีจะทำให้เกิดพิษถึงตายได้ ดังนั้นการใช้สมุนไพรจึงควรใช้อย่างถูกต้อง และใช้ด้วยความระมัดระวัง

<u>ข้อดีและข้อเสียของการใช้ยาสมุนไพร</u> (วันดี กฤษณพันธ์, 2537)

การใช้ยาสมุนไพรในการบำบัดรักษาโรค มีข้อดีหลายประการคือ

1. ทำให้เกิดอาการพิษได้น้อย เนื่องจากสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์อ่อน ก่อให้เกิดอาการพิษหรืออาการข้างเคียงได้น้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน
2. ช่วยประหยัดรายจ่าย เนื่องจากสมุนไพรมีราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบันมาก อีกทั้งสามารถปลูกและเตรียมเป็นยาใช้ได้เอง ซึ่งจะช่วยประหยัดรายจ่ายของครอบครัว และช่วยประหยัดเงินตราของประเทศ ในการสั่งนำเข้ายาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศ จึงสมควรที่จะสนับสนุนให้นำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ให้มากยิ่งขึ้น

3. เป็นที่พึ่งของคนในชนบทที่ห่างไกล ผู้ป่วยที่อยู่ตามชนบทห่างไกล ซึ่งไม่สะดวกที่จะเดินทางมารับการตรวจรักษา จากสถานบริการทางการแพทย์แผนปัจจุบันได้ หากในหมู่บ้านมีสมุนไพรพื้นบ้านปลูกไว้ ก็จะสามารถใช้รักษาโรคได้โดยเฉพาะโรคที่มีอาการพื้นๆ เช่น อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องร่วง เป็นต้น
4. ช่วยขจัดปัญหาการขาดแคลนยาในภาวะคับขัน ยาแผนปัจจุบันและวัตถุดิบที่ใช้ผลิตยาแผนปัจจุบันจำนวนมาก ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ การใช้สมุนไพรทดแทนยาแผนปัจจุบันในภาวะขาดแคลนก็จะเป็นประโยชน์

การใช้สมุนไพรในการรักษาโรค มีข้อเสียคือ

1. ใช้ไม่สะดวก ยุ่งยาก เสียเวลา เช่นในการรับประทานยาหม้อต้องเสียเวลาอุ่นยาทุกเช้าและเย็น
2. ฤทธิ์ไม่แน่นอน ยาสมุนไพรส่วนใหญ่มีฤทธิ์อ่อน ออกฤทธิ์ช้า ต้องรับประทานเป็นเวลานานๆและเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้สมุนไพรมีสารหลายชนิดอยู่รวมกันอาจแสดงฤทธิ์ต้านกันเอง

ปัจจุบันได้มีการพยายามศึกษาค้นคว้า วิจัย และพัฒนายาจากสมุนไพรเพื่อให้สามารถนำมาใช้ในรูปแบบที่สะดวกขึ้น เช่น นำมาบดเป็นผงบรรจุลงในแคปซูล นำมาเตรียมในรูปครีมและยาขี้ผึ้ง เป็นต้น

ลูกยอ (*Morinda Citrifolia* Linn.)

ข้อมูลทั่วไป

Citrifolia เป็นชนิด (species) ที่โดดเด่นมากที่สุดในสกุล (genus) Morinda ของลูกยอ ซึ่งมีประมาณ 80 ชนิด (McClatchey, 2003) เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae ตระกูล Coffee ลูกยอในประเทศไทยเป็นสกุลและชนิดนี้เช่นเดียวกัน (ฝ่ายวิชาการ สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2545) มีชื่อท้องถิ่นว่า มะตาเสือ (ภาคเหนือ) ยอ (ภาคกลางและภาคอีสาน) แยใหญ่ (กะเหรี่ยงและแม่ฮ่องสอน) ยอสามารถเพาะปลูกได้ง่าย ขึ้นได้ดีในดินเกือบทุกชนิด ยอเป็นไม้ต้นขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรงสูง 2 - 6 เมตร กิ่งก้านมักเป็นสี่เหลี่ยม เปลือกต้นเรียบ ใบเป็นใบเดี่ยวมีสีเขียวเข้ม ออกเรียงกันเป็นคู่ๆ ไปตามข้อต้น ลักษณะของใบเป็นรูปมนรี โคนใบและปลายใบแหลม ขนาดกว้าง 8 - 15 เซนติเมตร ยาว 10 - 20 เซนติเมตร มีหูใบอยู่ระหว่างโคนใบกับก้านใบ ดอกเป็นดอกช่อ ออกที่ซอกใบ ฐานดอกอัดกันแน่นเป็นทรงกลม ก้านช่อยาว 3 - 4 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาวออกรวมกันเป็นกระจุก ผลเป็นผลสดเชื่อมติดกันเป็นผลรวมรูปร่างกลมรี ยาว 3 - 10 เซนติเมตร มีตาเป็นปุ่มรอบตัว ลูกอ่อนสีเขียวสด เมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีขาวมีกลิ่นฉุน ภายในมี

เมล็ดสีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก ยอเป็นพืชพื้นเมืองในประเทศเขตร้อน พบในประเทศมาเลเซีย ออสเตรเลีย โปลีนีเซีย อินเดีย ฟิลิปปินส์ รวมทั้งประเทศไทย

ภาพที่ 1 แสดงภาพผลลูกยอ

สรรพคุณ

ยอเป็นพืชสมุนไพรที่ตั้งแต่อดีตได้มีการนำส่วนต่างๆ ของยอมาใช้เพื่อประโยชน์ในทางการแพทย์ ชาวจีน ญี่ปุ่น ฮาวาย ใช้ลูกยอเป็นยาบำรุงกำลังและเป็นยาลดไข้ ชาวหมู่เกาะแปซิฟิกและฮาวายใช้ใบ ดอก ผล และเปลือกแก้ท้องผูกและลดไข้ ใช้รักษาโรคทางตา ผิวหนังที่เป็นแผลและหนอง โรคในบริเวณคอและระบบทางเดินหายใจ และโรคเหงือก ชาวฟิลิปปินส์ใช้น้ำจากใบยอในการรักษาโรคข้ออักเสบ เป็นต้น เช่นเดียวกันประเทศไทยก็มีการนำเปลือกมาต้มดื่มแก้ไข้จับสั่น ลูกยอที่ไม่สุกหรือดิบเกินไปนำมาหั่นปิ้งไฟ แล้วต้มเอาน้ำเป็นกระสายใช้ร่วมกับยาแก้คลื่นไส้อาเจียนที่ไม่รุนแรง ลูกยอดิบสามารถรักษาโรคเหงือกได้ (มงคล แก้วเทพ, 2544) และน้ำลูกยอก็ยังสามารถใช้รักษาการติดเชื้อในช่องปากได้อีกด้วย (Whistler,1992) สรรพคุณของยอสามารถสรุปได้ในตารางที่ 1 (อาภรณ์ เจริญพิริยะ, 2545)

ตารางที่ 1 แสดงสรรพคุณของส่วนต่างๆ ของยอที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

ส่วนของต้นยอ	สรรพคุณ
ราก	ยาฆ่าเชื้อ ยาถ่าย ยาบำรุงกำลัง ลดไข้ แก้เจ็บคอ แก้ปวดฟัน รักษาหิดหรือฝีที่ผิวหนัง
เปลือก	ลดไข้ รักษาไซนัสอักเสบ แผลมีหนองหรือแผลติดเชื้อในช่องปาก มีเลือดออกทางช่องคลอด
ใบ	ลดไข้ แก้ปวด แก้เจ็บคอ แก้ท้องเสีย รักษาต่อมหนังตาอักเสบ รูมาติก เหงือกอักเสบหรือติดเชื้อราในช่องปาก ยาขับระดู
ดอก	แก้ไอ แก้เจ็บคอ รักษาต่อมหนังตาอักเสบ รักษาแผลและการติดเชื้อราในช่องปากและลำคอ รักษาเบาหวาน
ผล	แก้ไอ อาเจียน ท้องเสีย เจ็บคอ ปวดฟัน เหงือกบวม รักษาแผลติดเชื้อทั้งในช่องปากและผิวหนัง ยาบำรุงกำลัง ยาขับระดู รักษาเบาหวาน
เมล็ด	ยาถ่าย ยาขับพยาธิ

คุณสมบัติทางชีวภาพและเภสัชวิทยากับงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์

1. ยับยั้งการก่อมะเร็ง (Carcinogenesis inhibition)

อนงค์ เทพสุวรรณ์ และ วรรณี คูสำราญ (2540) ศึกษาโดยให้อาหารที่ผสมใบยอแก่หนูวิสตาร์เพศผู้ ในอัตราส่วนร้อยละ 12.5 เป็นเวลานาน 14 วัน พบว่าใบยอยับยั้งเอนไซม์ที่กระตุ้นสารเคมีและสารก่อมะเร็ง โดยลดระดับไซโตโครม พี-450 (cytochrome P-450) และเอนไซม์อะลานีน ไฮดร็อกซีเลส (alanine hydroxylase) เหลือร้อยละ 75 และ 66 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และใบยอสามารถกระตุ้นเอนไซม์ ที่ทำลายพิษหรือกำจัดสารเคมี คือเพิ่มระดับเอนไซม์ กลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione-S-transferase) และเอนไซม์ยูดีพี-กลูคิวโรนิล-ทรานสเฟอเรส (UDP-glucuronyl-transferase) เป็นร้อยละ 150 และ 210 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยที่การเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวของหนูที่ได้รับใบยอไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่น้ำหนักตับจะสูงกว่ากลุ่มควบคุม

2. ต้านเนื้องอก (Antitumor activity)

Hiramatsu และคณะ (1993) ได้สกัดแยกสารจากรากของยอชื่อว่า แดมนาแคนทอล (damnacanthal) แล้วฉีดเข้าไปในเซลล์ “ราส” (*ras* cell) ซึ่งเป็นเซลล์เริ่มต้นในการเกิดการเจริญโดยไม่หยุด พบว่าแดมนาแคนทอล สามารถทำให้เซลล์ “ราส” เปลี่ยนกลับมามีองค์ประกอบและรูปร่างของเซลล์ที่ปกติได้ โดยสารจากรากยอเป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในพืช 500 ชนิดที่ทำการศึกษา เนื่องจากแดมนาแคนทอล เป็นตัวยับยั้งการทำงานของยีน “ราส” ซึ่งเป็นสัญญาณควบคุมการเจริญของการเกิดมะเร็งที่ปอด ตับอ่อน และมะเร็งเม็ดโลหิตขาวในมนุษย์

3. ต้านการก่อกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity)

Wang และคณะ (1999) สกัดแยกกรดแอสเปอรูโลซิดิก (asperulosidic acid) จากผลยอ สารนี้ประกอบด้วยกลุ่มอัลฟ่า-อันแซททูเรทเทท คาร์บอนีล (α-unsaturated carbonyl group) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการต่อต้านการเปลี่ยนแปลงของยีน

อนงค์ เทพสุวรรณ์ และ วรรณี คูสำราญ (2540) ศึกษาโดยให้น้ำคั้นจากใบยอปริมาณ 29 - 100 ไมโครลิตร ที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยความเย็นแก่หนูวิสตาร์เพศผู้ แล้วสกัดสารเอส 9 แฟรกชั่น (S9 fraction) จากตับหนูวิสตาร์ ซึ่งเป็นสารกระตุ้นฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารก่อมะเร็ง 2-amino-3-methylmidazo[4,5-f]quinoline ในแบคทีเรียซาลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม (*Salmonella typhimurium*) ได้ พบว่าสารเอส 9 แฟรกชั่น มีความสามารถในการลดการกระตุ้นฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารก่อมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (Antioxidative activity)

Zin และคณะ (2002) พบว่าเมื่อใช้เอทิล อะซีเตท (ethyl acetate) สกัดแยกสารจากส่วนราก ผล และใบของต้นยอ สารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงเทียบเท่ากับสารต้านอนุมูลอิสระอัลฟ่า-โทโคเฟอรอล (α-tocopherol)

5. ต้านจุลชีพ (Antibacterial activity)

Locher และคณะ (1995) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ พบว่าเมื่อใช้อะซีโตไนตริล (acetonitrile) สกัดแยกสารประกอบจากผลยอ สารสกัดที่ได้ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ สแตฟฟีโลคอคคัส ออเรียส เอสเชอริเชีย โคไล ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา สเตร็พโตคอคคัส พัยโอจีนส์ (*Streptococcus pyogenes*) และแคนดิดา อัลบิแคนส์

อารีรัตน์ ลออปักษา และคณะ (2531) ได้ศึกษาสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเบต้า-สเตร็พโตคอคคัส กลุ่มเอ (β-streptococcus group A)

Sundarrao และคณะ (1993) พบว่าสารสกัดเอทานอล 95% จากเปลือกรากยอ แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียบาซิลลัส สับทิลิซ สแตฟฟิโลคอคคัส อัลบัส (*Staphylococcus albus*) ส่วนสารสกัดเอทานอล 95% จากเปลือกต้นยอ แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสแตฟฟิโลคอคคัส อัลบัส

6. ต้านไวรัส (Antiviral activity)

Umezawa และคณะ (1994) สกัดแยก 1-methoxy-2-formyl-3-hydroxyantraquinone จากส่วนรากของต้นยอ พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเกิดพยาธิสภาพของเซลล์เอ็มที-โฟร์ (MT-4) ที่ติดเชื้อเอชไอวีได้โดยไม่ยับยั้งการเจริญของเซลล์

7. เสริมภูมิคุ้มกัน (Immunology activity)

Hirazumi และคณะ (1999) ศึกษาพบว่าน้ำลูกยอสามารถต่อต้านมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยหนูที่เป็นมะเร็งชนิด ลิวอิส ลัง คาร์ซิโนมา (Lewis Lung Carcinoma) จะมีชีวิตยืนยาวขึ้นเมื่อได้รับการรักษาด้วยน้ำลูกยอ เนื่องจากสารในน้ำลูกยอ สามารถกระตุ้นการหลั่ง TNF-α, IL-1-β, IL-10, IL-12p70, IFN-γ และไนตริกออกไซด์ได้ ดังนั้นสารสกัดจาก

ลูกยอยับยั้งการเกิดมะเร็ง โดยส่งเสริมการทำงานของแมคโครเฟจและลิมโฟไซต์ ในระบบภูมิคุ้มกันของหนู

8. ลดความดันโลหิต (Hypotensive activity)

Moorthy และ Reddy (1970) พบว่าการใช้เอธานอลสกัดแยกสารจากรากของต้นยอสามารถลดความดันโลหิตในสุนัขได้

9. ระงับความเจ็บปวด (Analgesic activity)

Younos และคณะ (1990) ศึกษาฤทธิ์ในการระงับความเจ็บปวดของสารสกัดจากยอ พบว่าเมื่อฉีดสารสกัดน้ำจากรากยอความเข้มข้นตั้งแต่ 800 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าช่องท้องหนู สารสกัดจะแสดงฤทธิ์ระงับความเจ็บปวด โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งประสิทธิภาพในการระงับปวดขึ้นกับปริมาณของสารสกัดจากยอที่หนูได้รับ

10. ผลเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม

Younos และคณะ (1990) ให้สารสกัดน้ำจากรากยอแก่หนู ขนาด 500 และ 800 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว จะทำให้ลดการเคลื่อนไหว คือหนูจะวิ่งและไต่บันไดน้อยลง และการตอบสนองต่อความมืดและสว่างเปลี่ยนไปโดยชอบอยู่ในที่มีแสงสว่างน้อยลง

11. สงบประสาท (Sedative effect)

Younos และคณะ (1990) ให้สารสกัดน้ำจากรากยอแก่หนู ขนาด 1600 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว จะทำให้หนูหลับ ซึ่งขนาดความเข้มข้นของสารสกัดจากรากยอนี้เทียบเท่ากับขนาดของยาเพ็นโทบาร์บิทอล (pentobarbital) ที่ทำให้เกิดอาการหลับลึก

12. เป็นพิษต่อแมลง

ใบยอ 0.4 กรัม บดละเอียดคลุกกับเมล็ดถั่วเขียว 10 กรัม แสดงผลลดการวางไข่ของแมลงด้วงถั่วเขียว ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่ทำลายเมล็ดพืชตระกูลถั่วได้หลายชนิด ทั้งในระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว (มยุรา สุนย์วีระ และคณะ, 2537)

สารหอมระเหยในผลยอสุก เป็นพิษต่อแมลงวันผลไม้ชนิดดรอโซฟิลา (Drosophila spp.) สารกลุ่มที่ออกฤทธิ์คือ กรดคาร์บ็อกซิลิก (carboxylic acid) เช่น กรดออกทาโนอิกและกรดเฮกซาโนอิก (Legal และคณะ, 1994)

<u>การศึกษาความเป็นพิษ</u>

Nakanishi และคณะ (1965) ทดลองฉีดสารสกัดเมทานอลกับน้ำ (1:1) จากใบ เข้าช่องท้องหนูเพศผู้ พบว่ามีค่า LD_{50} มากกว่า 1 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว

Younos และคณะ (1990) ศึกษาความเป็นพิษจากการป้อนสารสกัดน้ำจากรากยอให้หนู ขนาด 16 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว หรือฉีดสารสกัดน้ำจากรากยอเข้าช่องท้องหนู ขนาด 1, 2, 4 และ 8 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว แล้วติดตามผลเป็นเวลา 14 วัน ความเป็นพิษบันทึกโดยการสังเกตุการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง น้ำลายไหลมากผิดปกติ หนูส่งเสียงร้องมากขึ้น ตัวสั่นและขับถ่ายมากขึ้น ผลการศึกษาไม่พบอาการเป็นพิษดังกล่าวใน 3 วันแรก ส่วนหนูที่กินสารสกัด

ความเข้มข้น 16 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว และหนูที่ถูกฉีดสารสกัดความเข้มข้น 4 และ 8 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีน้ำหนักตัวลดลงและท้องผูกภายใน 14 วัน โดยไม่มีอาการเป็นพิษอย่างอื่น

ความสำคัญของเชื้อที่นำมาศึกษา

1. แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์

การประชุมเชิงปฏิบัติการทางปริทันตวิทยา (World Workshop on Clinical Periodontics) ในปี 1996 สรุปว่าเชื้อที่มีหลักฐานสนับสนุน ว่าเป็นเชื้อก่อโรคปริทันต์ในปัจจุบัน คือ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ พอร์ไฟโรโมแนส จินจิวาลิส (*Porphyromonas gingivalis*) และ แทนเนอเรลลา ฟอร์ไซเทีย (*Tanerella forsythia*) โดยในโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง จะพบเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จินจิวาลิส และแทนเนอเรลลา ฟอร์ไซเทีย เป็นจำนวนมาก และมีหลักฐานแสดงให้เห็นว่าเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีบทบาทสำคัญในการเป็นทั้งตัวตั้งต้นและทำให้โรคมีความรุนแรงมากขึ้น (Papapanou และคณะ, 1997) การรักษาโรคปริทันต์อักเสบชนิดนี้โดยปกติทั่วไปในผู้ป่วยที่ไม่มีโรคทางระบบ สามารถรักษาได้ด้วยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน โดยไม่จำเป็นต้องให้ยาต้านจุลชีพร่วมด้วย ส่วนในโรคปริทันต์อักเสบรุกรานมักจะต้องให้ยาต้านจุลชีพร่วมด้วยจึงจะให้ผลการรักษาที่ดี (Slots และ Rosling, 1983)

จุลชีววิทยาของเชื้อ

แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ เป็นจุลชีพที่พบในช่องปากและระบบทางเดินหายใจส่วนต้นของประชากรปกติได้ โดยอาจพบอยู่ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก ลิ้น และน้ำลาย (Asikainen, Alaluusua และ Saxan, 1991) แต่จำนวนเชื้อที่พบมีเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ อาจทำให้เกิดการติดเชื้อภายนอกช่องปากได้ด้วย เช่น โรคนิวโมเนีย โรคเยื่อบุหัวใจอักเสบ การติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ ฝีหนองบริเวณต่อมไธรอยด์ ฝีหนองที่บริเวณสมอง และโรคกระดูกสันหลังอักเสบ ซึ่งการติดเชื้อภายนอกช่องปากเหล่านี้ อาจมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อจากเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่อาศัยในช่องปากโดยตรงหรือติดเชื้อผ่านทางกระแสโลหิต (Zambon และคณะ, 1988)

เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ พบครั้งแรกโดยนักจุลชีววิทยาชาวเยอรมันซึ่งแยกเชื้อนี้ได้จากการติดเชื้อแอกติโนมัยโคซิสที่บริเวณศีรษะและลำคอ และตั้งชื่อเชื้อนี้ว่า แบคทีเรียม แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ (*Bacterium actinomycetemcomitans*) ซึ่งถูกเปลี่ยนเป็น แบคทีเรียม คอมิแทนส์ (*Bacterium comitans*) ในปีค.ศ. 1921 และเปลี่ยนเป็นแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในปี ค.ศ 1929 ซึ่งคำว่า แอกทิโนบาซิลลัส หมายถึงเชื้อที่มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ และพบว่ามีรูปดาวบนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (solid media) ส่วนคำว่า แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ แสดงถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแอกติโนมัยซิส (Actinomyces spp.) (Zambon, 1985)

แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ เป็นเชื้อจุลินทรีย์รูปกลมยาวติดสีแกรมลบ ขนาดเล็ก 0.7 ± 0.1 ไมโครเมตร x 1.0 ± 0.4 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ มีแคปซูล เจริญได้ดีในบรรยากาศที่ประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ อาจพบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มก็ได้ (Eisenmann และคณะ, 1983)

ลักษณะโคโลนีหลังการเพาะเลี้ยง 2 - 3 วัน พบว่ามีรูปร่างกลมขนาด 0.5 - 1.0 มิลลิเมตร ขอบขรุขระเล็กน้อย โคโลนีมีลักษณะโปร่งแสง มีผิวมัน โค้งนูน โดยเชื้อที่แยกออกมาทำการเพาะเลี้ยงในระยะแรกๆ จะพบว่าโคโลนียึดติดแน่นกับอาหารเลี้ยงเชื้อข้างใต้ทำการแยกออกได้ยาก และพบลักษณะรูปดาวได้ (Slots, 1982) ถ้านำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวพบว่าเชื้อมีการจับกันเป็นก้อนๆ ทำให้เห็นลักษณะเป็นแกรนูล (granule) จับกับผิวแก้วด้านข้างของหลอดทดลอง เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ระยะนี้จัดเป็นชนิดพื้นผิวไม่เรียบ (Rough) (Slots, Reynolds และ Genco, 1980) ความสามารถในการยึดกับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง การพบลักษณะดาวบนโคโลนี และการพบลักษณะเป็นแกรนูลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะหายไปหลังจากที่เชื้อผ่านการเพาะเลี้ยงติดต่อกันหลายๆ ครั้ง เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในระยะหลังนี้จัดเป็นชนิดพื้นผิวเรียบ (Smooth) (Nisengard และ Newman, 1994) จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนพบว่า การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากการสูญเสียฟิมเบรีย เอ (Fimbriae type A) ขนาดยาว 2.7 ไมโครเมตร และกว้าง 2 นาโนเมตร ของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ หลังจากผ่านการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานๆ หน้าที่ของฟิมเบรีย เอ ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากการสูญเสียความสามารถในการยึดกับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและการเกาะกลุ่มของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ทำให้พิจารณาว่า ฟิมเบรีย เอ อาจจะมีหน้าที่ในการเกาะยึดทั้งกับเซลล์เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ด้วยกันเอง และเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เชื้อจุลินทรีย์มาอาศัยอยู่ (Zambon และคณะ, 1988)

เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ แบ่งออกเป็น 5 ซีโรไทป์ (serotypes) ได้แก่ ซีโรไทป์ เอ บี ซี ดี และอี โดยพบว่าซีโรไทป์ เอ และบี พบได้บ่อยในช่องปาก ในขณะที่ซีโรไทป์ ซีมีโอกาสพบเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อศึกษาการติดเชื้อของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ นอกช่องปากพบว่าเป็นซีโรไทป์ ซี ได้สูงถึง 73 เปอร์เซ็นต์ (Zambon และคณะ, 1988) ส่วนการศึกษาเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในช่องปากของประชากรปกติจะพบซีโรไทป์ เอ และ บี เท่าๆ กัน แต่จะพบซีโรไทป์ เอ มากในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (Listgarten, Lai และ Evain, 1981) และจะพบซีโรไทป์ บี มากขึ้นในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกราน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาทางระบบภูมิคุ้มกัน ที่พบว่ามีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ซีโรไทป์ บี เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกรานอย่างมีนัยสำคัญ (Zambon, Slots และ Genco, 1983) แสดงให้เห็นว่าเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ซีโรไทป์ บี เป็นซีโรไทป์

สำคัญในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบรุกราน แต่ลักษณะการพบซีโรไทป์ของเชื้อจะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ การศึกษาในประเทศเกาหลีตรวจพบซีโรไทป์ ซี จากคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุกรานได้ (Chung และคณะ, 1989)

บทบาทของเชื้อในการเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคปริทันต์อักเสบรุกราน

มีหลักฐานการศึกษาทั้งในทางคลินิก จุลชีววิทยา และทางวิทยาภูมิคุ้มกัน ที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างจุลชีพชนิดนี้กับโรคปริทันต์อักเสบโดยเฉพาะโรคปริทันต์อักเสบรุกราน (Zambon, 1985) ดังนี้

1. ในผู้ที่ไม่ได้เป็นโรคปริทันต์อักเสบจะพบซีโรไทป์ เอ และ บี ได้พอๆ กัน ส่วนผู้ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกรานจะตรวจพบว่ามีซีโรไทป์ บี ในปริมาณที่สูงขึ้นอย่างเด่นชัด
2. สามารถรักษาโรคปริทันต์อักเสบรุกรานให้ประสบความสำเร็จได้ ด้วยการกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จากร่องลึกปริทันต์
3. การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาพบว่ามีแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือกของคนเป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกราน
4. ในด้านของระบบภูมิคุ้มกัน พบว่ามีภูมิคุ้มกันโดยแอนติบอดีต่อเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ สูงขึ้นในคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกราน

โรคปริทันต์อักเสบรุกรานมีการทำลายของอวัยวะปริทันต์อย่างรุนแรง มากกว่าโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง เนื่องจากเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ สามารถผลิตปัจจัยความรุนแรงของจุลชีพได้หลายชนิดดังนี้

1. ลิวโคทอกซิน (leukotoxin) สามารถทำลายนิวโทรฟิลและโมโนไซต์ โดยการจับกับเซลล์ดังกล่าวแล้วทำให้เกิดรูที่ผนังเซลล์มีผลต่อความดันออสโมติก ทำให้เซลล์ตายแบบเซลล์เดี่ยวแตกตายเอง เรียกว่าอะพ็อบโทซิส (apoptosis) โดยไม่เกิดการแตกสลายของเซลล์ เมื่อไม่มีการแตกสลายของเซลล์ก็ไม่เกิดการปล่อยสารที่จะมาฆ่าแบคทีเรียรวมทั้งไม่สามารถปล่อยสารดึงดูดการชุมนุมของเซลล์อักเสบได้ จึงทำให้ยิ่งเอื้อประโยชน์ต่อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่จะรอดจากการถูกทำลายได้มากขึ้น (Tsai และคณะ, 1984)
2. คอลลาจีเนส (collagenase) ทำให้เกิดการสูญเสียคอลลาเจนในเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือก (Robertson และคณะ, 1982)
3. ไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) กระตุ้นแมคโครเฟจให้หลั่งไซโทไคน์ (cytokine) ต่างๆ ได้แก่ IL-1, IL-1β และ TNF ซึ่งไซโทไคน์เหล่านี้จะกระตุ้นให้เกิดการละลายของกระดูกเบ้าฟัน นอกจากนี้ยังกระตุ้นให้เซลล์อักเสบหลั่งเอนไซม์มาย่อยสลายเนื้อเยื่อยึดต่อด้วย (Kiley และ Holt, 1980)

4. แคปซูลา พอลิแซ็กคาไรด์ (capsular polysaccharide) ช่วยให้แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ยึดติดกับเยื่อบุผิวเหงือกทำให้แทรกซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อยึดต่อได้ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการละลายของกระดูกเบ้าฟันด้วย (Wilson และคณะ, 1985)
5. อีพิทีลิโอทอกซิน (epitheliotoxin) เป็นสารพิษทำลายเซลล์เยื่อบุผิวได้ จึงช่วย แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในการแทรกซึมผ่านเยื่อบุผิวร่องเหงือกเพื่อให้มีช่องทางเข้าไปในเนื้อเยื่อยึดต่อที่อยู่ข้างใต้ (Birkedal-Hansen และคณะ, 1982)

นอกจากนี้แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ยังมีสารที่ยับยั้งการคีโมแทกซิส (chemotaxis) ของนิวโทรฟิล (Van Dyke และคณะ, 1982a) สารพิษที่ทำให้เกิดการละลายของกระดูก (Nowotny และคณะ, 1982) สารที่เปลี่ยนแปลงการทำงานของลิมโฟไซต์ (Shenker และคณะ, 1982a) และสารที่ยับยั้งการทำงานของไฟโบรบลาสท์ (Shenker และคณะ, 1982b)

การใช้ยาต้านจุลชีพกับการรักษาโรคปริทันต์

ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบรุกราน ให้ประสบความสำเร็จได้นั้น จะต้องกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เป็นสาเหตุของโรคให้หมด (Slots และ Ting, 1999) เนื่องจากแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกมีความสามารถแทรกซึมเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือกได้ (Christersson และคณะ, 1983) จึงต้องใช้ยาต้านจุลชีพร่วมด้วย ดังมีการศึกษาที่กล่าวถึงการใช้ยาต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบรุกราน

Saxen และ Asikainen (1993) พบว่าการรับประทานเมโทรนิดาโซลหรือเตตราซัยคลีน สามารถลดจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในช่องปากได้อย่างมาก แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อจนหมดได้

Slots และ Rosling (1983) พบว่าการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน ร่วมกับการรับประทานยาเตตราซัยคลีน 1 กรัม/วัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยไม่ต้องทำศัลยกรรมปริทันต์ สามารถกำจัดเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จากร่องลึกปริทันต์ได้ เช่นเดียวกัน Genco และคณะ (1981) พบว่าการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน ร่วมกับการรับประทานยาเตตราซัยคลีน 1 กรัม/วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และได้รับยาซ้ำทุก 8 สัปดาห์เป็นเวลา 18 เดือน จะทำให้ไม่มีการสูญเสียกระดูกเบ้าฟันเพิ่มขึ้น

Kleinfelder และคณะ (2000) รายงานว่า การรับประทานยาออฟลอซาซิน 200 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 วัน ร่วมกับการทำศัลยกรรมปริทันต์ สามารถกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้นาน 1 ปี Muller และคณะ (1993) แสดงให้เห็นว่า การทำศัลยกรรมปริทันต์ร่วมกับการรับประทานยามิโนไซคลีน สามารถลดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส

แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้ในโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นเฉพาะที่ แต่ได้ผลไม่แน่นอนในโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นรุนแรง หรือ เป็นแบบทั่วไปทั้งปาก รวมทั้งไม่สามารถกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ บริเวณเยื่อบุข้างแก้มและในน้ำลายได้

van Winkelhoff, Tijhof และ de Graaff (1992) พบว่าการรับประทานยาเมโทรนิดาโซล 250 มิลลิกรัม และ อะมอกซีซิลลิน 375 มิลลิกรัม วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 8 วัน สามารถกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในโรคปริทันต์อักเสบรุกรานได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้นานอย่างน้อยที่สุด 2 ปี (Pavicic และคณะ, 1994) และในบริเวณเยื่อบุช่องปาก ลิ้น ทอนซิล นานอย่างน้อยที่สุด 1 ปี (Flemmig และคณะ, 1998) แต่อย่างไรก็ดี ในผู้ป่วยบางคนอาจพบการติดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้ใหม่ภายหลังการรักษาด้วยยาเมโทรนิดาโซลร่วมกับอะมอกซีซิลลินมาแล้ว 2 - 3 ปี (Pavicic และคณะ, 1994)

สาเหตุที่ทำให้การกำจัดเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จากช่องปากไม่ประสบความสำเร็จในผู้ป่วยทุกราย อาจเนื่องจากผู้ป่วยบางรายไม่ให้ความร่วมมือในการรับประทานยาได้ครบตามคำแนะนำของแพทย์ หรือเป็นเพราะเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ไม่ได้อยู่ในลักษณะที่เป็นเชื้อเดี่ยวๆ แต่อยู่กันเป็นไบโอฟิล์ม (biofilm) หรืออาจเป็นเพราะมีเชื้อชนิดอื่นขัดขวางการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ หรือเป็นเพราะชนิดซีโรไทป์ของเชื้อที่พบในผู้ป่วยแต่ละรายแตกต่างกัน โดยพบว่า ซีโรไทป์ บี ซึ่งพบมากในประชากรบางกลุ่มนั้นจะดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้มากกว่าซีโรไทป์ เอ (Haffajee และคณะ, 1996)

2. แคนดิดา อัลบิแคนส์

จุลชีววิทยาของเชื้อ

แคนดิดาเป็นเชื้อราที่มีลักษณะเหมือนยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นยูแคริโอต (eukaryote) มีรูปร่าง 2 แบบ ส่วนใหญ่จะอยู่ในสภาพไฮฟีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และจะอยู่ในสภาพบลาสโตสปอร์ (blastospore) ที่อุณหภูมิน้อยกว่า 30 องศาเซลเซียส ส่วนช่วงระหว่างอุณหภูมิเหล่านี้ อาจจะเกิดรูปซูโดไฮฟีก็ได้ แคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนและเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด

เชื้อในสกุลแคนดิดามีหลายชนิด โดยแคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นชนิดที่พบได้มากที่สุดถึงร้อยละ 50 - 80 ของเชื้อราแคนดิดาที่แยกได้จากช่องปาก (Lundstrom และคณะ, 1984) ในช่องปากของคนที่มีสุขภาพดีอาจตรวจพบเชื้อราแคนดิดา ที่บริเวณด้านบนของลิ้น ที่เพดานปาก และกระพุ้งแก้มได้ (Arendorf และ Walker, 1980) แต่เชื้อราแคนดิดาที่พบจะมีจำนวนไม่มากนัก เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของสมดุลในช่องปาก เช่น การได้รับยาปฏิชีวนะต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน ในผู้ป่วยที่มีอาการปากแห้งจากการได้รับการฉายรังสีหรือเคมีบำบัด การได้รับยา

ประเภทสเตียรอยด์ (steroid) หรือในผู้ที่ใส่ฟันปลอมแล้วไม่สามารถรักษาความสะอาดของช่องปากและฟันปลอม เป็นต้น เชื้อราแคนดิดาจะเพิ่มจำนวนขึ้นและก่อให้เกิดพยาธิสภาพได้ (Epstein และคณะ, 1980) และเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปาก

ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดความรุนแรงของการเกิดโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปาก

1. ความสามารถในการยึดติดของเชื้อ

การที่เชื้อจะอยู่บนเนื้อเยื่อได้นั้น จำเป็นต้องอาศัยการยึดติดอยู่ได้บนเยื่อบุผิวและถือเป็นขั้นตอนแรกของการติดเชื้อราแคนดิดา โดยชนิดที่ก่อให้เกิดความรุนแรงในการติดเชื้อได้มากคือ แคนดิดา อัลบิแคนส์ และแคนดิดา ทรอปิคัลลิส (*Candida tropicalis*) เนื่องจากมีความสามารถในการยึดติดมากที่สุด ความสามารถในการยึดติดของเชื้อแคนดิดาเป็นขบวนการที่ซับซ้อน ทั้งยังขึ้นกับปฏิสัมพันธ์ที่จำเพาะของโปรตีนที่คล้ายเลคตินบนผนังเซลล์ของเชื้อรากับส่วนปลายที่เป็นน้ำตาลของไกลโคโปรตีนที่พื้นผิวเซลล์ของมนุษย์ เช่น ระหว่างน้ำตาลแมนโนซามีน (mannosamine) กลูโคซามีนและกาแลคโตซามีน (galactosamine) (Collins-Lech และคณะ, 1984)

นอกจากนี้ ยังพบความสัมพันธ์กันอย่างมากระหว่างความสามารถในการยึดติดของเชื้อราต่อเยื่อบุผิวกระพุ้งแก้มและการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนส (Borg และ Ruchel, 1988)

2. รูปแบบของเชื้อราแคนดิดาและการเกิดเจิร์ม ทิวบ์

ดังกล่าวมาแล้วว่าเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีรูปร่าง 2 แบบคือ อยู่ในสภาพไฮฟี หรือบลาสโตสปอร์ โดยในช่วงที่เกิดไฮฟีนั้น ถ้าถูกชักนำด้วยซีรัมจะพบมีเจิร์ม ทิวบ์เกิดขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งก็อาจมีส่วนเกี่ยวข้องต่อการติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปาก เพราะการเกิดเจิร์ม ทิวบ์อาจมีผลต่อการเพิ่มการยึดติดของเชื้อต่อเซลล์เยื่อบุผิว (Kimura และ Pearsall, 1980)

3. การสลับเปลี่ยนรูปร่าง (switching)

ลักษณะรูปร่างของสายพันธุ์ส่วนใหญ่ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีการเปลี่ยนแปลงบ่อย โดยเริ่มแรกเห็นได้จากความแตกต่างของรูปร่างโคโลนี และยังเกี่ยวข้องกับขนาดและรูปร่างของ บลาสโตสปอร์ การสลับเปลี่ยนรูปร่างนี้สามารถเปลี่ยนกลับสู่รูปแบบเดิมได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอ ลักษณะเช่นนี้อาจทำให้เกิดปัญหาของการดื้อยาเมื่อใช้ยาต้านเชื้อรามาเป็นเวลานาน

4. การขัดขวางการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) และการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

ขั้นแรกของระบบภูมิต้านทานของร่างกายต่อการติดเชื้อราแคนดิดา ประกอบด้วยการเกิดฟาโกไซโทซิสโดยเซลล์นิวโทรฟิล ซึ่งถ้ามีการขัดขวางในขั้นตอนนี้ย่อมมีผลต่อความรุนแรงของการติดเชื้อได้ นอกจากนี้เชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ บางสายพันธุ์ยังสามารถผลิตเปปไทด์ (peptide) ที่มีฤทธิ์เป็นกรดสามารถยับยั้งการจับติดของไฮฟีของเชื้อต่อเซลล์ฟาโกไซท์ (phagocyte) ในห้องปฏิบัติการ (Diamond และคณะ, 1980)

โดยทั่วไปแล้วเชื้อราแคนดิดาที่มีความสามารถย่อยสลายโปรตีนได้จะมีพิษต่อเซลล์ฟาโกไซท์ในห้องปฏิบัติการมากกว่าเชื้อราแคนดิดาที่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ (MacDonald และ Odds, 1983) ส่วนสารเปปสเตติน เอ (pepstatin A) ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสจะมีผลต่อเชื้อราแคนดิดาที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ในลักษณะที่ขึ้นกับปริมาณของสาร

สำหรับสารพอลิแซ็กคาไรด์ ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ นั้นพบว่ามีผลยับยั้งการแบ่งตัวของที-ลิมโฟไซต์ (T-lymphocyte) และการผลิตอินเตอร์ลิวคิน-1 (interleukin-1) และอินเตอร์ลิวคิน-2 ซึ่งเป็นกลไกหลักในระบบภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อของร่างกายด้วย (Lombardi และคณะ, 1985)

5. สารพิษที่ผลิตโดยเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

มีรายงานว่าไกลโคโปรตีนจากเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เพาะเลี้ยงมานานสามารถลดการเจริญเติบโตในหนูที่เกิดใหม่ได้ (Ruechel, 1990)

นอกจากนี้มีผู้แยกโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 75 กิโลดาลตัน มีชื่อว่าแคนดิทอกซิน (canditoxin) จากไซโตพลาสซึมของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และพบว่าทำให้เกิดการเรืองแสงอิมมูโนฟลูออเรสเซนท์ในเนื้อไตที่ติดเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ นอกจากนี้แคนดิทอกซินยังเป็นสารอะนาไฟแลคซิน (anaphylaxin) อีกด้วย

สารคิลเลอร์ทอกซิน (killer toxin) เป็นสารโปรตีนอีกชนิดที่ยีสต์รวมทั้งเชื้อราแคนดิดาหลั่งออกมาในห้องปฏิบัติการ และสามารถใช้ทำลายเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ (Polonelli และ Morace, 1986)

6. สารที่ได้จากการเผาผลาญที่มีความเป็นกรดของเชื้อราแคนดิดา

ขณะที่เชื้อมีการเผาผลาญอาหารจะมีสภาวะความเป็นกรดและเกิดมีสารต่างๆ ขึ้น เช่น กรดคาร์บอซิลิค (carboxylic acid) นอกจากนี้เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ยังสามารถผลิตอะซิเตท (acetate) และไพรูเวท (pyruvate) ได้ปริมาณมากเมื่อเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ สำหรับในช่องปากของคนที่มีเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และเชื้อแคนดิดา กลาบราตา (*Candida glabata*) เมื่อมีน้ำตาลกลูโคสอยู่ในน้ำลายพบว่า พีเอชลดจาก 7.5 เป็น 3.2 ภายใน 48 ชั่วโมง แสดงว่าเชื้อราแคนดิดามีแนวโน้มที่จะผลิตสารที่มีกรดมากขึ้นเมื่อมีสารคาร์โบไฮเดรต (Samaranayake และคณะ, 1986)

7. การพึ่งพาซึ่งกันและกันของเชื้อราแคนดิดาและแบคทีเรีย

เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องอาศัยออกซิเจนหลายชนิด แต่ก็อาจมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาซึ่งกันและกันกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด เช่น เชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซา และ สแต็ฟฟีโลคอคคัส ออเรียส ที่เป็นสาเหตุของมุมปากอักเสบร่วมกับการติดเชื้อราแคนดิดา

8. เอนไซม์โปรตีเนส

เอนไซม์นี้เป็นไกลโคโปรตีนที่เป็นคาร์บ็อกซิลโปรตีเนส มีส่วนประกอบของกรดแอสพาติกสูง ลักษณะโครงสร้างกรดอะมิโนด้านปลายที่เป็นไนโตรเจนคือทริปโตแฟน (tryptophan) ส่วนกรดอะมิโนด้านปลายที่เป็นคาร์บอนคือลิวซีน (leucine)

เอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อราแคนดิดาเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจก่อให้เกิดความรุนแรงของการติดเชื้อราแคนดิดาได้ Negi และคณะ (1984) พบว่าเอนไซม์โปรตีเนสมีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์เคอราติเนส สามารถย่อยสลายเคอราตินได้ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการแทรกตัวของเชื้อราผ่านเนื้อเยื่อบุผิว นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลายสารอื่นในร่างกาย เช่น อัลบูมิน ฮีโมโกลบิน คอลลาเจน ชั้นสเตรตัม คอร์เนียมของผิวหนังและเล็บของคน ซึ่งก็อาจมีผลต่อการติดเชื้อราพื้นผิวที่ผิวหนังและเล็บได้

Kaminishi และคณะ (1995) พบว่าเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สามารถย่อยสลายสารในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ โดยเอนไซม์โปรตีเนสสามารถย่อยสลายส่วนเอฟซีของอิมมูโนโกลบูลิน จีและโมเลกุลคอมพลีเมนต์ซี 3 ได้ ผลของการย่อยสลายส่วนเอฟซีของอิมมูโนโกลบูลิน จี จะลดการทำหน้าที่เป็นอ็อพโซนิน (opsonin) ของอิมมูโนโกลบูลิน จี มีผลต่อการเกิดฟาโกไซโทซิสของนิวโทรฟิล ส่วนผลของการย่อยสลายคอมพลีเมนต์ซี 3 จะลดการทำหน้าที่การทำลายแบคทีเรีย

เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้จะมีความสามารถในการยึดติดกับเซลล์เยื่อบุผิวได้มากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้ ส่วนสารเปปสเตติน เอ ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสได้ สามารถลดความสามารถในการยึดติดของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ต่อเนื้อเยื่อได้ด้วย (Borg และ Ruchel, 1988)

นอกจากนี้ Fallon และคณะ (1997) ทดลองฉีดสารเปปสเตติน เอ หรือแอมโฟเทอริซิน บี เข้าไปในหนูที่มีจำนวนนิวโทรฟิลต่ำก่อนที่จะใส่เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้ในปริมาณที่ทำให้ตายได้เข้าไป และได้รับการฉีดสารเปปสเตติน เอ อีกในวันที่ 1 และวันที่ 4 พบว่าในวันที่ 15 หลังจากนั้นหนูทุกตัวยังมีชีวิตอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับน้ำเกลือแทนสารเปปสเตติน เอ หรือแอมโฟเทอริซิน บี ซึ่งหนูทุกตัวในกลุ่มนี้จะตายในวันที่ 6 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารเปปสเตติน เอ สามารถป้องกันการแพร่กระจายการติดเชื้อแคนดิดาและเอนไซม์โปรตีเนส มีบทบาทสำคัญต่อการแพร่กระจายของเชื้อ

ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อราแคนดิดา

1. สายพันธุ์ของเชื้อ

จากเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ทั้งหมด 75 สายพันธุ์ มี 73 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้

2. ความเป็นกรดด่าง

การที่เชื้อจะสามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้นั้นขึ้นกับความเป็นกรดด่าง Homma และคณะ (1993) พบว่าเชื้อไม่ถูกชักนำให้ผลิตเอนไซม์โปรตีเนสในสภาวะที่เป็นกลาง ไม่ว่าจะอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัลบูมินจากซีรัมของวัวหรือไม่ก็ตาม และพบว่าการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดมากขึ้น ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์อยู่ระหว่าง 4.5 - 5 และเชื้อไม่สามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดด่างมากกว่า 6

ในสภาวะที่เป็นกลางมีความสำคัญต่อเชื้อในการสร้างไฮฟีและเจิร์ม ทิวบ์ แต่จะยับยั้งการผลิตเอนไซม์โปรตีเนส ซึ่งการที่เชื้อจะแทรกตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อ เริ่มจากเชื้อจะต้องยึดติดกับพื้นผิวเยื่อบุผิวก่อน ต่อมาเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนไปจนมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์โปรตีเนส เชื้อจะผลิตเอนไซม์มาย่อยสลายพื้นผิวเยื่อบุผิว จากนั้นค่าความเป็นกรดด่างของสภาวะแวดล้อมจะเปลี่ยนเป็นกลางมากขึ้น ซึ่งเซลล์จะสร้างไฮฟีและจะแทรกผ่านเข้าไปในชั้นลึกของเยื่อบุผิว (Homma และคณะ, 1993)

3. อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ Crandall และ Edwards (1987) พบว่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีอัลบูมินจากซีรัมของวัวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอนไซม์ได้ 10% ของปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตได้เมื่ออยู่ในอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

4. แหล่งของไนโตรเจน

ไนโตรเจนจะทำหน้าที่เป็นทั้งสารอาหาร และเป็นทั้งตัวชักนำให้เชื้อผลิตเอนไซม์โปรตีเนส เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีโปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน เพราะว่าเอนไซม์โปรตีเนสจะย่อยสลายโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ เอนไซม์นี้สามารถย่อยสลายสารได้หลายชนิด เช่น ฮีโมโกลบินของวัว อัลบูมินจากซีรัมของวัว ชั้นสเตรตัม คอร์เนียม (stratum corneum) ของผิวหนัง เป็นต้น (Negi และคณะ, 1984) การผลิตเอนไซม์โปรตีเนส จะถูกชักนำได้ แม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีโปรตีนอยู่เพียงเล็กน้อยเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่สารประกอบไนโตรเจน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ไกลซีน (glycine) กรดกลูตามิค (glutamic acid) ยูเรีย (urea) แอมโมเนียม ทาร์เทรท (ammonium tartrate) และแอมโมเนียม ซัลเฟท (ammonium sulphate) จะกดการสร้างเอนไซม์โปรตีเนส (Homma และคณะ, 1993)

นอกจากนี้ Crandall และ Edwards (1987) รายงานว่า ถ้าไม่มีแหล่งไนโตรเจนก็ไม่สามารถชักนำเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ให้ผลิตเอนไซม์โปรตีเนส อาจเนื่องจากว่าการผลิตเอนไซม์โปรตีเนส ถูกควบคุมด้วยสารประกอบจากการเผาผลาญไนโตรเจน

5. ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

Samaranayake และคณะ (1984) ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในน้ำลายที่ไม่มีกลูโคส Staib (1965) พบว่าเชื้อแคนดิดาสามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้เท่าๆ กันไม่ว่าจะใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.1% หรือ 2% แต่ Crandall และ Edwards (1987)

พบว่าเชื้อจะผลิตเอนไซม์โปรตีเนส ได้มากที่สุดเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคส 0.2% ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัลบูมินจาก ซีรัมของวัว 0.1% เป็นแหล่งไนโตรเจน แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตเอนไซม์โปรตีเนสถูกควบคุมด้วยแหล่งไนโตรเจนมากกว่าแหล่งคาร์บอน

6. วิตามินและเกลือแร่

Ruchel และคณะ (1982) แสดงให้เห็นว่า โปรโตวิท (protovit) ซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และการผลิตเอนไซม์โปรตีเนส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส อัลบูมินจากซีรัมของวัวและเกลือ ซึ่งยีสต์ เอ็กซ์แทร็ก (yeast extract) ก็ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน

Budtz-Jorgensen (1971) พบว่าการใส่โปรโตวิทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่ได้ช่วยให้เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ที่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเนสได้ เปลี่ยนมาผลิตเอนไซม์โปรตีเนส ในขณะที่ Staib (1965) พบว่าในบางสายพันธุ์เมื่อไม่ใส่โปรโตวิท เชื้อก็สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ แต่ในบางสายพันธุ์จะต้องใส่วิตามิน เชื้อจึงสามารถย่อยสลายโปรตีนได้

7. เวลา

MacDonald และ Odds (1980a) พบว่าการหลั่งเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ จะมากที่สุดภายในวันที่ 5 ถึงวันที่ 7 Staib (1965) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายอัลบูมินของคน 1% ที่พีเอช 5 - 6 จะเกิดบริเวณฝ้าขุ่นรอบโคโลนีของเชื้อในเวลา 12 - 24 ชั่วโมง เนื่องจากมีการตกตะกอนของโปรตีน และเกิดการย่อยสลายโปรตีนตามมา หลังจากที่เลี้ยงเชื้อได้ 5 วัน นำมาย้อมด้วยสีแนพธาลีน แบล็กเพื่อให้เห็นบริเวณที่มีการย่อยสลายโปรตีนได้ชัดเจนขึ้น

Budtz-Jorgensen (1971) ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ จากเชื้อทั้งหมด 62 สายพันธุ์ หลังจากที่เลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง พบว่ามีสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตร้อยละ 70 สายพันธุ์ที่มีการตกตะกอนของโปรตีนร้อยละ 51 ของสายพันธุ์ทั้งหมด แต่พบสายพันธุ์ที่มีการย่อยสลายโปรตีนเพียงร้อยละ 4 ของสายพันธุ์ทั้งหมด แต่หลังจากเลี้ยงเชื้อได้ 3 วัน พบว่ามีสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตร้อยละ 82 สายพันธุ์ที่มีการตกตะกอนของโปรตีนร้อยละ 78 สายพันธุ์ที่มีการย่อยสลายโปรตีนร้อยละ 40 ของสายพันธุ์ทั้งหมด และหลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ไม่พบว่ามีสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตหรือมีบริเวณที่มีการตกตะกอนของโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่พบสายพันธุ์ที่เกิดการย่อยสลายโปรตีนร้อยละ 70 ของสายพันธุ์ทั้งหมด

ความสัมพันธ์ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์กับโรคปริทันต์อักเสบ

ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบรุนแรงสามารถตรวจพบยีสต์ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกได้ประมาณ 20% ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด โดยส่วนใหญ่จะเป็นแคนดิดา อัลบิแคนส์ (Slots, Rams และ Listgarten, 1988) Listgarten และคณะ (1993) พบว่าผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันนั้น ส่วนใหญ่ตรวจพบยีสต์ในร่องลึกปริทันต์ นอกจากนี้ Helovuo และคณะ (1993) รายงานการใช้ยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยแล้ว

ทำให้เกิดการติดเชื้อจากยีสต์ในร่องลึกปริทันต์เกิดขึ้น แทนการติดเชื้อจากแบคทีเรียที่พบเป็นประจำในร่องลึกปริทันต์ Chattin และคณะ (1999) ศึกษาเชื้อชนิดต่างๆ ในร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี พบว่าจำนวนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี มีมากกว่าในผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี และจากการศึกษาของ Kamma และคณะ (1999) ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่สูบกับไม่สูบบุหรี่ พบว่าสามารถตรวจพบแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์ของผู้ที่สูบบุหรี่มีจำนวนเชื้อมากกว่าในร่องลึกปริทันต์ของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ จากหลายการศึกษาดังกล่าวแล้ว ที่แสดงถึงการตรวจพบแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์ แสดงให้เห็นว่า เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ อาจมีบทบาทต่อการดำเนินโรคปริทันต์อักเสบ

แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่พบในร่องลึกปริทันต์มี 2 ชนิดคือ ซีโรไทป์ เอ และ บี ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนชาติต่างๆ และตามชนิดของเชื้อก่อโรคปริทันต์ที่พบร่วมกัน โดยพบว่าคนในประเทศฟินแลนด์และตุรกีมักพบ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ชนิดซีโรไทป์ เอ มากกว่าคนในประเทศสหรัฐอเมริกา และในชาวฟินแลนด์ที่ตรวจพบแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์จะตรวจพบเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ เป็นสัดส่วนที่มากกว่าในคนที่ไม่พบแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์ (Hannula และคณะ, 2001)

การศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนตรวจพบแคนดิดา อัลบิแคนส์ อยู่ในเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือก ของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุกราน เนื่องจากแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีความสามารถยึดติดและแทรกผ่านเยื่อบุผิวเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือกได้ (Gonzalez และคณะ, 1987) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าแคนดิดา อัลบิแคนส์ สามารถผลิตคอลลาจีโนไลติกเอนไซม์ได้ (Kaminishi และคณะ, 1986) เอนไซม์ชนิดนี้ย่อยสลายคอลลาเจน จึงอาจทำให้เสริมการทำลายอวัยวะปริทันต์มากขึ้นด้วย

ต่อมา Song และคณะ (2003) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสกุล ชนิด และไบโอไทป์ของยีสต์ในช่องปาก เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง กับผู้ที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ พบว่า ยีสต์ในช่องปากของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังนั้น จะมีความหลากหลายของชนิดและไบโอไทป์มากกว่าในผู้ที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (ผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังพบยีสต์ 4 ชนิดคือ แคนดิดา อัลบิแคนส์ แคนดิดา ดูบลิไนเอ็นสิส (*Candida.dubliniensis*) แคนดิดา พาแร็พไซโลสิส (*Candida.parapsilosis*) และ แซ็คคาโรมัยซิส ซีรีวิสเซีย (*Saccharomyces cerevisiae*) ทั้งหมด 19 ไบโอไทป์ ส่วนผู้ที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบพบยีสต์ 2 ชนิดได้แก่ แคนดิดา อัลบิแคนส์ และ แคนดิดา ดูบลิไนเอ็นสิส ทั้งหมด 11 ไบโอไทป์) โดยเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นเชื้อที่พบเป็นจำนวนมากที่สุด ในตำแหน่งต่างๆ ของช่องปากทั้งในผู้ที่เป็นและไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ยกเว้นในร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังพบว่ามีแคนดิดา ดูบลิไนเอ็นสิส เป็นจำนวนมากที่สุด

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและสารในการวิจัย

1. เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ สายพันธุ์ ATCC 43718
2. เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ ATCC 9028
3. ลูกยอที่แก่จัดจนสุก (สีเขียวอ่อนหรือขาว) ปริมาณ 20 กิโลกรัม
4. สารที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆมีดังนี้
   ก. น้ำอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain Heart Infusion broth) ปริมาณ 500 กรัม (บริษัท Britania ประเทศอาร์เจนตินา)
   ข. วุ้นอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain Heart Infusion agar) ปริมาณ 500 กรัม (บริษัท Britania ประเทศอาร์เจนตินา)
   ค. น้ำอาหารแซบบูโร่ (Sabouraud broth) ปริมาณ 500 กรัม (บริษัท Britania ประเทศอาร์เจนตินา)
   ง. วุ้นอาหารแซบบูโร่เด็กซโตรส (Sabouraud dextrose agar) ปริมาณ 500 กรัม (บริษัท Britania ประเทศอาร์เจนตินา)
5. แผ่นกรองเชื้อแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมโครเมตร
6. สารละลายแบเรียม ซัลเฟต (Barium sulphate) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
7. น้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 500 มิลลิลิตร

อุปกรณ์การวิจัย

1. ตู้ปลอดเชื้อ (Microflow advanced bio safety cabinet class II) (บริษัท Bioquell ประเทศอังกฤษ)
2. ตู้อบเลี้ยงเชื้อที่บรรยากาศประกอบด้วยกาซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (Infrared CO_2 incubator) (บริษัท Forma scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา)
3. ตู้อบเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (บริษัท Clayson ประเทศนิวซีแลนด์)
4. เครื่องทำให้แห้งด้วยความเย็น (Lyophilizer) Flexi-Dry™MP (บริษัท FTSSYSTEMS ประเทศสหรัฐอเมริกา)
5. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) Novaspec II (บริษัท Pharmacia ประเทศอังกฤษ)
6. เครื่องปั่น (centrifuge) Hermle Z320 (บริษัท B.HERMLE Gmbh&Co ประเทศเยอรมนี)

7. เครื่องชั่งน้ำหนัก Denver Instrument XL-3100 (บริษัท Denver Instrument company ประเทศสหรัฐอเมริกา)
8. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony counter 560) (บริษัท Suntex ประเทศไต้หวัน)
9. เครื่อง Vortex mixer
10. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
11. ชุดเครื่องมือที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ จานเลี้ยงเชื้อ แท่งแก้วรูปตัวแอล เข็มรูปห่วง (loop needle) ตะเกียงแอลกอฮอล์ หลอดทดลองพร้อมฝาปิด ปิเปต ไมโครปิเปต
12. ชุดเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมน้ำลูกยอ ได้แก่ บีกเกอร์ขนาด 5 ลิตร ฟลาสก์ (flask)

วิธีดำเนินการวิจัย

<u>การเตรียมน้ำลูกยอ</u>

นำผลลูกยอที่แก่จัดมาแช่ในน้ำผสมน้ำยาล้างผักผลไม้เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำประปา และล้างน้ำสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นจนสะอาดก่อนนำมาใส่ในบีกเกอร์ขนาด 5 ลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟอยล์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วันจนได้น้ำออกมาจากลูกยอที่สุก ลักษณะเป็นน้ำสีเหลืองออกน้ำตาล นำน้ำที่ได้มาปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่น โดยใช้ความเร็ว 2,400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการแยกเอาส่วนของเหลวใสที่ลอยอยู่บนชั้นตะกอนออกมา แล้วทำการปั่นซ้ำอีกครั้ง จากนั้นนำของเหลวใสที่ได้มาทำให้แห้งด้วยความเย็น จนได้เป็นผงสีน้ำตาล เก็บผงนี้ในภาชนะมีฝาปิดและมีสารดูดความชื้น เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

<u>การทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์</u>

1. การเตรียมและการเพาะเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จากตู้เก็บเชื้อ อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองบรรจุน้ำอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ในตู้บ่มเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อที่ขึ้น (สังเกตจากความขุ่นของน้ำเลี้ยงเชื้อ) มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยใช้เข็มรูปห่วงแตะเชื้อในหลอดทดลองมาเกลี่ยบนวุ้นอาหาร เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จะพบโคโลนีของเชื้อลักษณะโปร่งแสง รูปกลมขนาด 0.5 - 1.0 มิลลิเมตร นำมาพิสูจน์ความถูกต้องของเชื้อ โดยการย้อมสีแบบแกรม

เก็บโคโลนีจากวุ้นอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน จำนวน 10 - 15 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารน้ำเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าวแล้ว เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ มาเพาะเลี้ยงต่อในน้ำอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน หลอดใหม่ เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อเข้าสู่ระยะล็อก ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อมีการเจริญโดยเพิ่มจำนวนของเชื้อมากขึ้นเป็น 2 เท่า

2. การเตรียมจำนวนเชื้อ

การทดลองนี้ใช้เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จำนวน 10^8 CFU/ml (Colony Forming Unit / milliliter) การเตรียมเชื้อทำโดยใช้วิธีการสังเกตความขุ่นของเชื้อ และการนับโคโลนีของเชื้อ เนื่องจากวิธีการวัดความขุ่นเป็นวิธีที่วัดจำนวนของแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ โดยประมาณ เพื่อให้ได้จำนวนของเชื้อที่แน่นอน จึงใช้วิธีการนับจำนวนโคโลนีของแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย

2.1 วิธีการสังเกตความขุ่นของเชื้อ

การสังเกตความขุ่นของเชื้อเป็นวิธีที่ใช้วัดจำนวนของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ โดยเปรียบเทียบกับความขุ่นของเชื้อที่แขวนลอย

การทดลองนี้กำหนดค่าความขุ่นของเชื้อที่วัดจากเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร และได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.05 เป็นค่าคงที่ในการเตรียมจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ เพื่อใช้ทำการทดลองให้ได้จำนวนเชื้อคงที่คือ 10^8 CFU/ml ดังนั้นหลังจากได้เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ในน้ำอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงมา 4 ชั่วโมงแล้ว ให้นำมาเจือจาง เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงจนกระทั่งมีค่าเท่ากับ 0.05

2.2 การนับจำนวนโคโลนี

นำหลอดเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.05 แล้ว ซึ่งจะเรียกว่าหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมาทำให้เจือจางที่อัตราส่วน 1:50,000 ถ่ายน้ำเลี้ยงเชื้อปริมาณ 50 ไมโครลิตร/จาน ลงในวุ้นอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน 2 จาน ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าวแล้ว เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้จำนวนของเชื้อที่มีอยู่ในหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้น

3. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธีบรอธไดลูชัน (Broth Dilution Test) (Brock และคณะ, 1994)

นำผงลูกยอ 300 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 20 มิลลิลิตรได้สารละลายตั้งต้นของน้ำลูกยอมีความเข้มข้น 15.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองเชื้อแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ต่อจากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำลูกยอที่ใช้ในการทดสอบในแต่ละหลอดเท่ากับ 12.5, 10.0, 7.5, 5.0 และ 2.5 mg/ml ตามลำดับ โดยแต่ละหลอดมีปริมาณน้ำลูกยอหลอดละ 1.5 มิลลิลิตร เริ่มทำการทดสอบโดยใส่น้ำเลี้ยงเชื้อปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงในน้ำลูกยอเท่ากันทุกหลอด ดังนั้นจำนวนเชื้อตั้งต้นที่อยู่ในหลอดน้ำลูกยอเมื่อเริ่มทำการทดลองมีจำนวน 10^6 CFU/ml ทิ้งไว้ให้มีเวลาสัมผัสเท่ากับ 15 นาที เมื่อครบ 15 นาทีแล้วถ่ายเชื้อจากหลอดทดสอบทุกหลอดปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีน้ำอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน 900 ไมโครลิตร แล้วนำหลอดนี้ไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูผลในหลอดที่ใสเป็นหลอดแรกเมื่อมองด้วยตาเปล่า โดยถือว่าเป็นหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

4. การนับจำนวนโคโลนีเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ

นำหลอดเลี้ยงเชื้อทุกหลอดที่ได้ หลังจากครบเวลาสัมผัสก่อนเข้าตู้บ่มเชื้อ มาทำการเจือจางเชื้อลงด้วยอัตราส่วน 1:5, 1:15 และ 1:20 แล้วถ่ายน้ำเลี้ยงเชื้อจากหลอดที่ไม่ได้เจือจางและเจือจางด้วยอัตราส่วนต่างๆ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในวุ้นอาหารเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าว ภายหลัง 48 ชั่วโมงทำการนับจำนวนโคโลนี นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อในแต่ละหลอดแล้วเปรียบเทียบจำนวนเชื้อจากหลอดทดสอบทุกหลอดกับหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้น แล้วบันทึกผลดังนี้

NI (Non Inhibitory Effect) คือ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เมื่อเชื้อในหลอดทดสอบมีจำนวนมากกว่าหรือเท่ากับเชื้อในหลอดตั้งต้น หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อเท่ากับ 0

PI (Partial Inhibitory Effect) คือ สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนเมื่อเชื้อในหลอดทดสอบมีจำนวนน้อยกว่าเชื้อในหลอดตั้งต้น หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อมากกว่า 0 ถึง 99.9

I (Inhibitory Effect) คือ สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดเมื่อไม่มีเชื้อในหลอดทดสอบ หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อเท่ากับ 100

หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้น โดยเปลี่ยนเวลาสัมผัสเป็น 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ตามลำดับ โดยจะทำการทดลองซ้ำทั้งหมดอีก 2 ครั้งของแต่ละเวลาสัมผัส

การสรุปผลจากการทดลองทั้ง 3 ครั้งในกรณีที่ผลการทดลองไม่สอดคล้องกัน ให้สรุปผลดังนี้

- ถ้าผลการทดลองครั้งใดก็ตามแม้เพียงครั้งเดียวได้ผลว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ให้สรุปว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้
- ถ้าผลการทดลองจากทั้ง 3 ครั้งประกอบด้วยสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนกับสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด ให้สรุปว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน

- ถ้าผลการทดลองจากทั้ง 3 ครั้งได้ผลสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด จึงจะสรุปได้ว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด

<u>การทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์</u>

1. การเตรียมเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ จากตู้เก็บเชื้อ อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองบรรจุน้ำอาหารแซบบูโร่ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อที่ขึ้น (สังเกตจากความขุ่นของน้ำเลี้ยงเชื้อ) มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยใช้เข็มรูปห่วงแตะเชื้อในหลอดทดลองมาเกลี่ยบนวุ้นอาหารแซบบูโร่เด็กซโตรส ให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะพบโคโลนีของเชื้อลักษณะทึบแสงสีขาวนวล รูปกลมขนาด 2 - 3 มิลลิเมตร นำมาพิสูจน์ความถูกต้องของเชื้อโดยการย้อมสีแบบแกรม

เก็บโคโลนีจากวุ้นอาหารแซบบูโร่เด็กซโตรส จำนวน 5 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารน้ำแซบบูโร่ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

2. การเตรียมจำนวนเชื้อ

การทดลองนี้ใช้เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ จำนวนเทียบเท่ากับสารความขุ่นสเกล 0.5 ของแมคฟาแลนด์ ร่วมกับการนับโคโลนีของเชื้อ เพื่อให้ได้จำนวนของเชื้อที่แน่นอน ซึ่งคำนวณหาจำนวนเชื้อได้เท่ากับ 10^5 CFU/ml

2.1 วิธีการสังเกตความขุ่นของเชื้อ

ความขุ่นของสารสเกล 0.5 ของแมคฟาแลนด์ เตรียมโดยนำแบเรียมคลอไรด์ 1% ปริมาณ 0.05 มิลลิลิตร ผสมกับกรดซัลฟูริก 1% ปริมาณ 9.95 มิลลิลิตร นำสารที่ได้นี้ไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 530 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นหลอดเปรียบเทียบ ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.11 ใช้เป็นค่าคงที่ในการเตรียมจำนวนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เพื่อใช้ทำการทดลองให้ได้จำนวนเชื้อคงที่คือ 10^5CFU/ml ดังนั้นหลังจากได้เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในน้ำอาหารแซบบูโร่ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงมา 24 ชั่วโมงแล้ว ให้นำมาเจือจาง เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงจนกระทั่งมีค่าเท่ากับ 0.11

2.2 การนับจำนวนโคโลนี

นำหลอดเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.11 แล้ว ซึ่งจะเรียกว่าหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้นมาทำให้เจือจางที่อัตราส่วน 1:1,000 ถ่ายน้ำเลี้ยงเชื้อปริมาณ 50 ไมโครลิตร/จาน ลงในวุ้นอาหารแซบบูโร่เด็กซโตรส 2 จาน ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าวแล้ว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้จำนวนของเชื้อที่มีอยู่ในหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้น

3. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธีบรอธไดลูชัน

นำผงลูกยอ 1,200 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ได้สารละลายตั้งต้นของน้ำลูกยอมีความเข้มข้น 60 mg/ml แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองเชื้อแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมโครเมตร ต่อจากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำลูกยอที่ใช้ในการทดสอบในแต่ละหลอดเท่ากับ 50, 40, 30, 20 และ 10 mg/ml ตามลำดับ โดยแต่ละหลอดมีปริมาณน้ำลูกยอหลอดละ 2 มิลลิลิตร เริ่มทำการทดสอบโดยใส่น้ำเลี้ยงเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้นปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในน้ำลูกยอเท่ากันทุกหลอด ดังนั้นจำนวนเชื้อตั้งต้นที่อยู่ในหลอดน้ำลูกยอเมื่อเริ่มทำการทดลองมีจำนวน 10^4 CFU/ml ทิ้งไว้ให้มีเวลาสัมผัสเท่ากับ 15 นาที เมื่อครบ 15 นาทีแล้วถ่ายเชื้อจากหลอดทดสอบทุกหลอดปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำอาหารแซบบูโร่ 900 ไมโครลิตร แล้วนำหลอดนี้ไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลในหลอดที่ใสเป็นหลอดแรกเมื่อมองด้วยตาเปล่า โดยถือว่าเป็นหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

4. การนับจำนวนโคโลนีเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ

นำหลอดเลี้ยงเชื้อทุกหลอดที่ได้ หลังจากครบเวลาสัมผัสก่อนเข้าตู้บ่มเชื้อ มาทำการเจือจางเชื้อลงด้วยอัตราส่วน 1:10 แล้วถ่ายน้ำเลี้ยงเชื้อจากหลอดที่ไม่ได้เจือจางและเจือจางปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในวุ้นอาหารแซบบูโร่เด็กซโตรส ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล เกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วจาน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่มีสภาวะเหมาะสมดังกล่าว ภายหลัง 24 ชั่วโมงทำการนับจำนวนโคโลนี นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อในแต่ละหลอดแล้วเปรียบเทียบจำนวนเชื้อจากหลอดทดสอบทุกหลอดกับหลอดเลี้ยงเชื้อตั้งต้น แล้วบันทึกผลดังนี้

NI คือ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เมื่อเชื้อในหลอดทดสอบมีจำนวนมากกว่าหรือเท่ากับเชื้อในหลอดตั้งต้น หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อเท่ากับ 0

PI คือ สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนเมื่อเชื้อในหลอดทดสอบมีจำนวนน้อยกว่าเชื้อในหลอดตั้งต้น หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อมากกว่า 0 ถึง 99.9

I คือ สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดเมื่อไม่มีเชื้อในหลอดทดสอบ หรือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อเท่ากับ 100

หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำด้วยวิธีการเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้นโดยเปลี่ยนเวลาสัมผัสเป็น 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ตามลำดับ โดยจะทำการทดลองซ้ำทั้งหมดอีก 2 ครั้งของแต่ละเวลาสัมผัส

การสรุปผลจากการทดลองทั้ง 3 ครั้งในกรณีที่ผลการทดลองไม่สอดคล้องกัน ให้สรุปผลดังนี้

- ถ้าผลการทดลองครั้งใดก็ตามแม้เพียงครั้งเดียวได้ผลว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ให้สรุปว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

- ถ้าผลการทดลองจากทั้ง 3 ครั้ง ประกอบด้วยสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนกับสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด ให้สรุปว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน
- ถ้าผลการทดลองจากทั้ง 3 ครั้ง ได้ผลสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด จึงจะสรุปได้ว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยในครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel version 2003 ในการประมวลผลข้อมูลที่ได้จากการศึกษา และใช้สถิติเชิงพรรณาในการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์

ตารางที่ 2ก แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 1

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	35.1	88.3	99.9	100	100	100
30	24.9	99.9	99.9	100	100	100
45	38.9	100	100	100	100	100
60	43.8	100	100	100	100	100
75	62.7	100	100	100	100	100
90	72.3	100	100	100	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 1 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 35.1, 24.9, 38.9, 43.8, 62.7 และ 72.3 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ตามลำดับ

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 88.3 เปอร์เซ็นต์ที่เวลาสัมผัส 15 นาที และ 99.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 30 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 99.9 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอความเข้มข้น 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 2ข แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 2

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	41.4	62.2	99.9	100	100	100
30	40.9	99.9	99.9	100	100	100
45	42.5	100	100	100	100	100
60	58.3	100	100	100	100	100
75	74.7	100	100	100	100	100
90	76.9	100	100	100	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 2 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 41.4, 40.9, 42.5, 58.3, 74.7 และ 76.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ตามลำดับ

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 62.2 เปอร์เซ็นต์ที่เวลาสัมผัส 15 นาที และ 99.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 30 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 99.9 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอความเข้มข้น 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 2ค แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 3

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	26.2	57.7	99.9	100	100	100
30	36.8	99.9	99.9	100	100	100
45	42.5	100	100	100	100	100
60	42.2	100	100	100	100	100
75	61.2	100	100	100	100	100
90	70.9	100	100	100	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 26.2, 36.8, 42.5, 42.2, 61.2 และ 70.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ตามลำดับ

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 57.7 เปอร์เซ็นต์ที่เวลาสัมผัส 15 นาที และ 99.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัมผัส 30 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 99.9 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอความเข้มข้น 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 3 แสดงผลสรุปการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	PI	PI	PI	I	I	I
30	PI	PI	PI	I	I	I
45	PI	I	I	I	I	I
60	PI	I	I	I	I	I
75	PI	I	I	I	I	I
90	PI	I	I	I	I	I

conc. = concentration CT = contact time

PI = Partial Inhibitory Effect I = Inhibitory Effect

จะเห็นว่าการทดลองทั้ง 3 ครั้งให้ผลสอดคล้องกัน โดยมีความแตกต่างกันในเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อเท่านั้น จึงสามารถสรุปผลการยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ของน้ำลูกยอจากการทดลองทั้ง 3 ครั้งได้ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในทุกช่วงเวลาสัมผัส

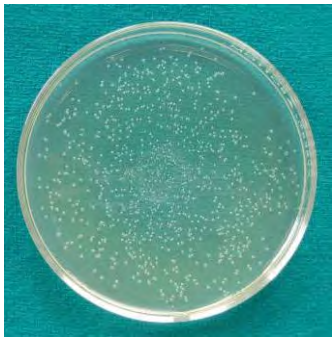
น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในช่วงเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในช่วงเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที

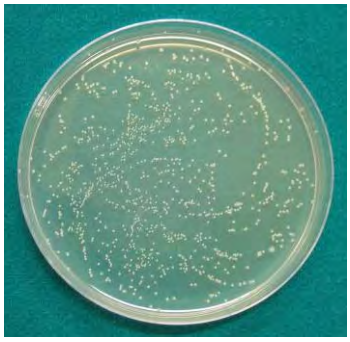
น้ำลูกยอความเข้มข้น 10.0, 12.5 และ 15.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ภาพที่ 2 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 2.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

เชื้อตั้งต้น

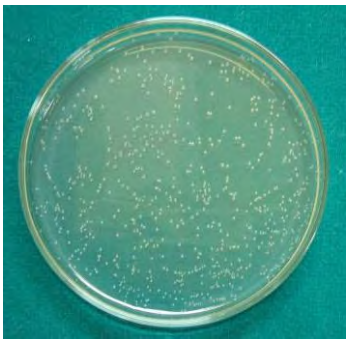


15 นาที

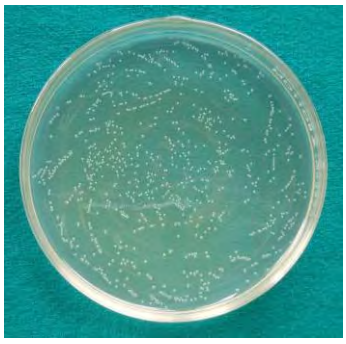


30 นาที

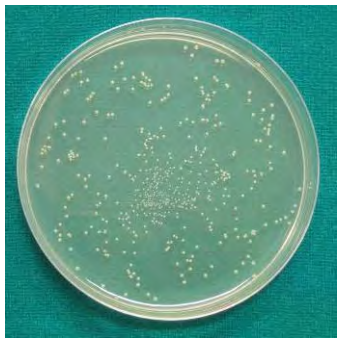
45 นาที



60 นาที



75 นาที

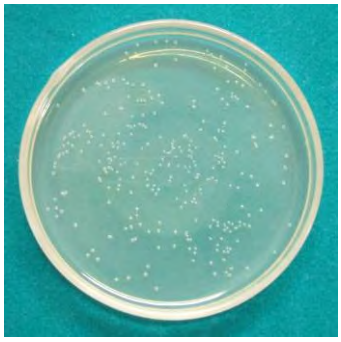


90 นาที

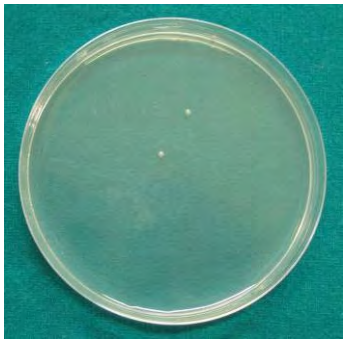
ภาพที่ 2 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน โดยเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่เวลาสัมผัสต่างๆ มีจำนวนน้อยกว่าในจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น และพบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml ยับยั้งเชื้อได้มากขึ้นตามเวลาสัมผัสที่เพิ่มขึ้นจาก 15 นาที ถึง 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบมีจำนวนโคโลนีน้อยลงเมื่อเวลาสัมผัสเพิ่มขึ้นจาก 15 นาที ถึง 90 นาที

ภาพที่ 3 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 5.0 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

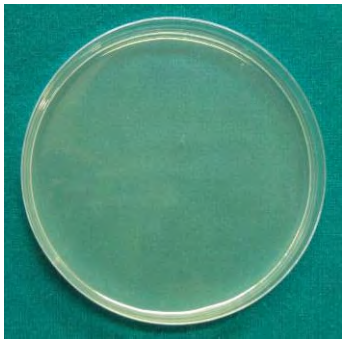
เชื้อตั้งต้น



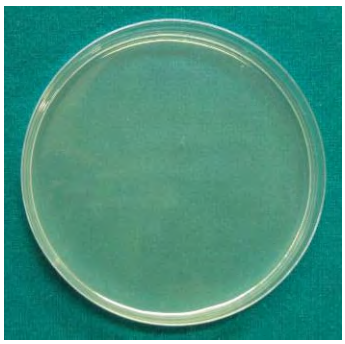
15 นาที



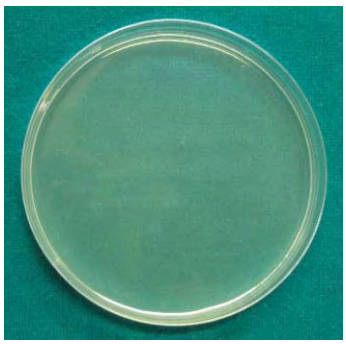
30 นาที



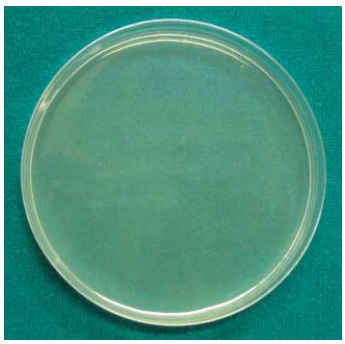
45 นาที



60 นาที



75 นาที

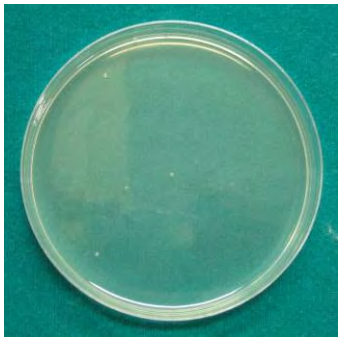


90 นาที

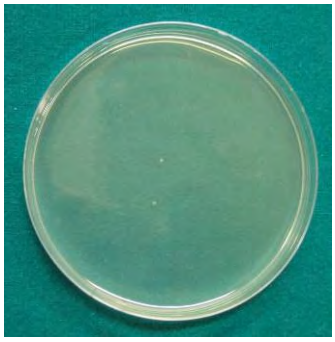
ภาพที่ 3 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที โดยที่เวลาสัมผัส 30 นาทีจะยับยั้งเชื้อได้มากกว่า 15 นาที เห็นได้จากการที่มีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า ส่วนที่เวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาทีนั้น พบว่าน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

ภาพที่ 4 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 7.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

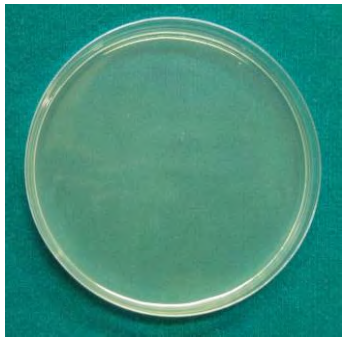
เชื้อตั้งต้น



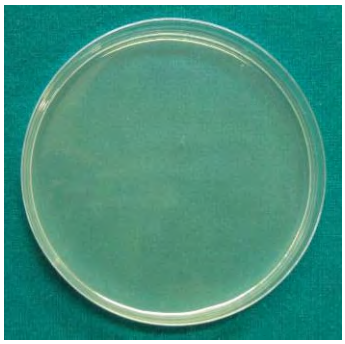
15 นาที



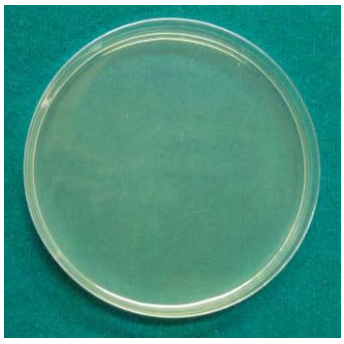
30 นาที



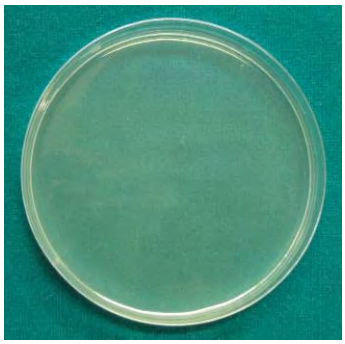
45 นาที



60 นาที



75 นาที

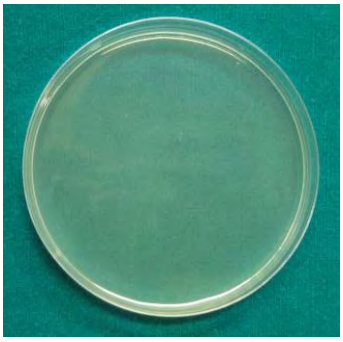


90 นาที

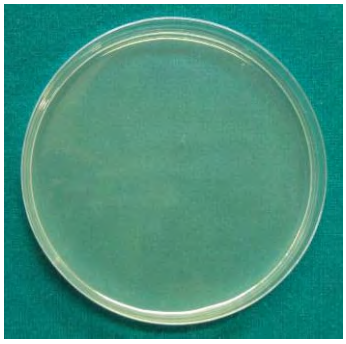
ภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที ส่วนที่เวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาทีนั้น พบว่าน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 7.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

ภาพที่ 5 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 10 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

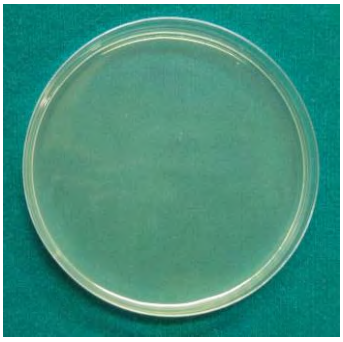
เชื้อตั้งต้น



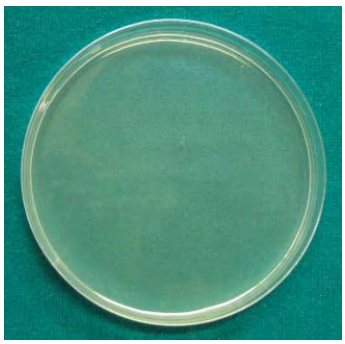
15 นาที



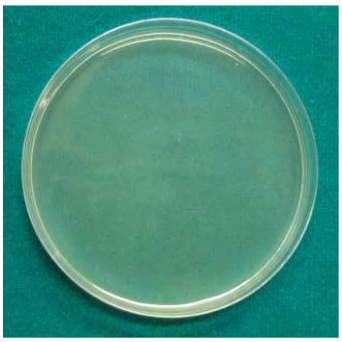
30 นาที



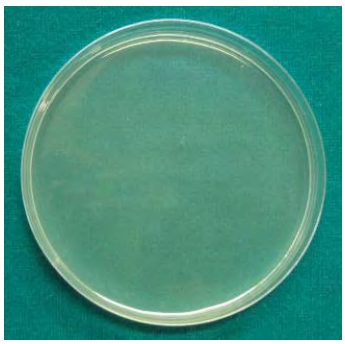
45 นาที



60 นาที



75 นาที

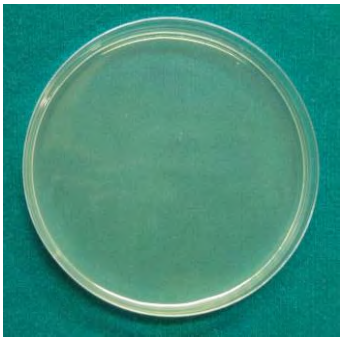


90 นาที

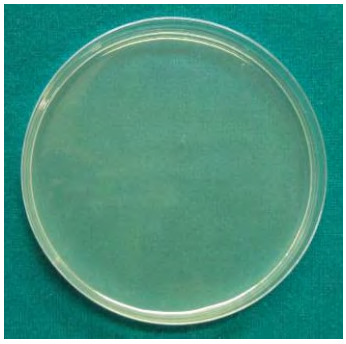
ภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัส คือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

ภาพที่ 6 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 12.5 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

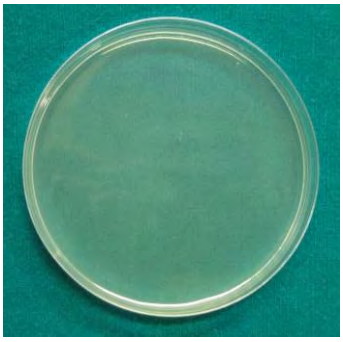
เชื้อตั้งต้น



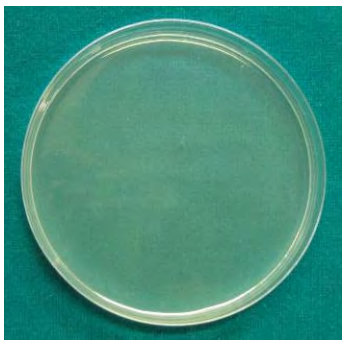
15 นาที



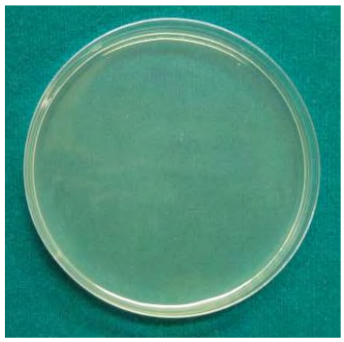
30 นาที



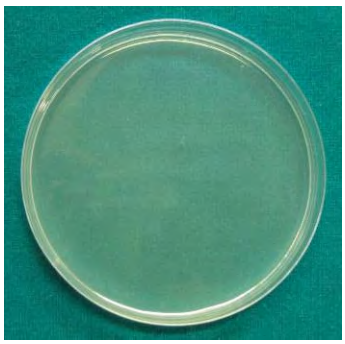
45 นาที



60 นาที



75 นาที

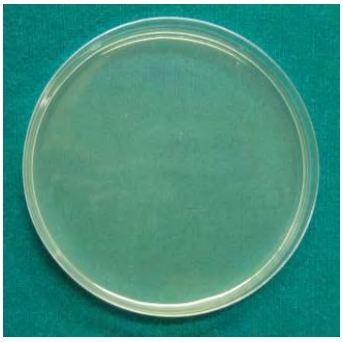


90 นาที

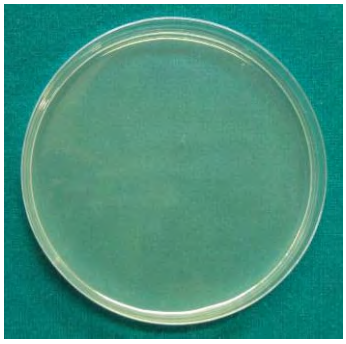
ภาพที่ 6 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัส คือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

ภาพที่ 7 แสดงผลการเพาะเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 15 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

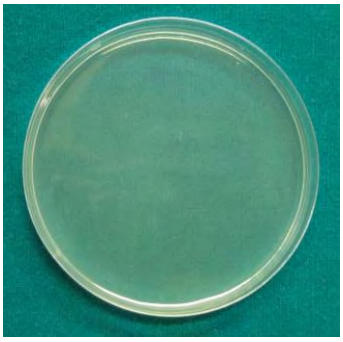
เชื้อตั้งต้น



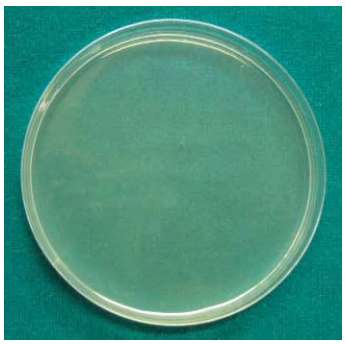
15 นาที



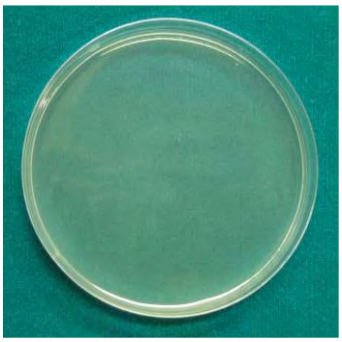
30 นาที



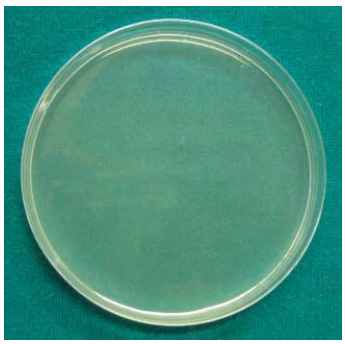
45 นาที



60 นาที



75 นาที



90 นาที

ภาพที่ 7 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 15 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัส คือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

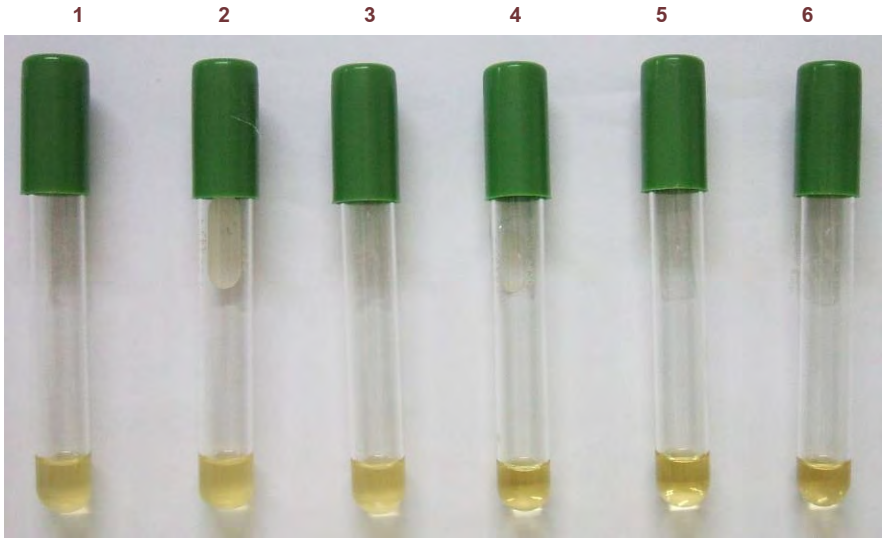
ตารางที่ 4 แสดงผลการสังเกตความขุ่นและใสของน้ำลูกยอในหลอดทดลอง ที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่าง ๆ ของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์

CT(min.)	ลักษณะน้ำลูกยอในหลอดทดลอง					
	Conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส	ใส
30	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส	ใส
45	ขุ่น	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส
60	ขุ่น	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส
75	ขุ่น	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส
90	ขุ่น	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส

conc. = concentration CT = contact time

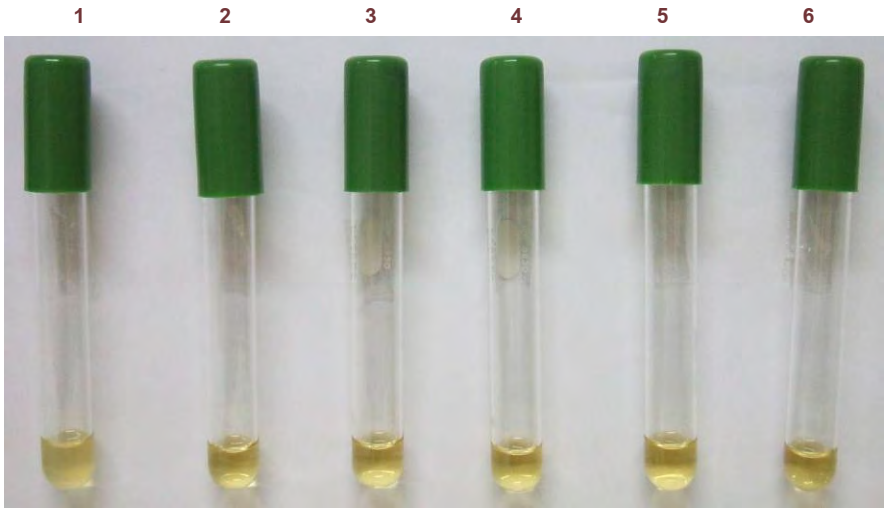
ตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า ที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือ หลอดความเข้มข้น 10.0 mg/ml ส่วนที่เวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือ หลอดความเข้มข้น 5.0 mg/ml

ภาพที่ 8 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที ของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์



ภาพที่ 8 พบว่าที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรกคือ หลอดความเข้มข้น 10.0 mg/ml ดังนั้น น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10.0 mg/ml จึงเป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้ที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที ของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์



ภาพที่ 9 พบว่าที่เวลาสัมผัส 45 ,60 ,75 และ 90 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรกคือหลอดความเข้มข้น 5.0 mg/ml ดังนั้น น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml จึงเป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้ที่เวลาสัมผัส 45 ,60 ,75 และ 90 นาที

การทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

ตารางที่ 5ก แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 1

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	0	0	0	79.5	100	100
30	0	0	21.3	61.0	100	100
45	0	0	73.8	96.9	100	100
60	0	0	77.0	99.0	100	100
75	0	0	96.7	96.9	100	100
90	0	0	96.7	100	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 1 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 30 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่เวลาสัมผัส 15 นาที แต่สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 21.3, 73.8, 77.0, 96.7 และ 96.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 79.5, 61.0, 96.9, 99.0 และ 96.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดที่เวลาสัมผัส 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 และ 60 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 5ข แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 2

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	0	0	0	84.0	99.2	100
30	0	0	0	82.4	100	100
45	0	0	0	98.3	100	100
60	0	0	0	99.2	100	100
75	0	0	0	95.8	100	100
90	0	0	5.9	99.2	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 2 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 30 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที และสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 90 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 5.9 เปอร์เซ็นต์

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 84.0, 82.4, 98.3, 99.2, 95.8 และ 99.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 99.2 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดที่เวลาสัมผัสคือ 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 60 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 5ค แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที ในการทดลองครั้งที่ 3

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	0	0	0	99.2	100	100
30	0	0	0	100	100	100
45	0	0	0.4	99.2	100	100
60	0	0	1.2	100	100	100
75	0	0	12.1	100	100	100
90	0	0	0	100	100	100

conc. = concentration CT = contact time

ในการทดลองครั้งที่ 3 พบว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 30 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่เวลาสัมผัส 15, 30 และ 90 นาที และสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 45, 60 และ 75 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 0.4, 1.2 และ 12.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่า ที่เวลาสัมผัส 90 นาที ได้ผลว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้นั้น น่าจะมีความผิดพลาดจากการทดลอง เพราะผลที่ได้ควรจะสามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 และ 45 นาที ด้วยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ 99.2 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดที่เวลาสัมผัส 30, 60, 75 และ 90 นาที

น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 และ 60 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ตารางที่ 6 แสดงผลสรุปการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่างๆ จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง

CT(min.)	conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	NI	NI	NI	PI	PI	I
30	NI	NI	NI	PI	I	I
45	NI	NI	NI	PI	I	I
60	NI	NI	NI	PI	I	I
75	NI	NI	NI	PI	I	I
90	NI	NI	NI	PI	I	I

conc. = concentration CT = contact time

NI = Non Inhibitory Effect PI = Partial Inhibitory Effect I = Inhibitory Effect

จะเห็นว่าการทดลองทั้ง 3 ครั้ง ส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องกัน ยกเว้นที่ความเข้มข้น 30 และ 40 mg/ml ที่เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเชื้อมีความผันแปร ตารางที่ 6 แสดงผลสรุปการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของน้ำลูกยอจากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที น้ำลูกยอความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที น้ำลูกยอความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 นาที และสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดที่เวลาสัมผัส 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที และ น้ำลูกยอความเข้มข้น 60 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดที่ทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที

ภาพที่ 10 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 10 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

เชื้อตั้งต้น

15 นาที

30 นาที

45 นาที

60 นาที

75 นาที

90 นาที

ภาพที่ 10 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีจำนวนไม่แตกต่างจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น

ภาพที่ 11 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 20 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

เชื้อตั้งต้น

15 นาที

30 นาที

45 นาที

60 นาที

75 นาที

90 นาที

ภาพที่ 11 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 20 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีจำนวนไม่แตกต่างจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น

ภาพที่ 12 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 30 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

เชื้อตั้งต้น

15 นาที

30 นาที

45 นาที

60 นาที

75 นาที

90 นาที

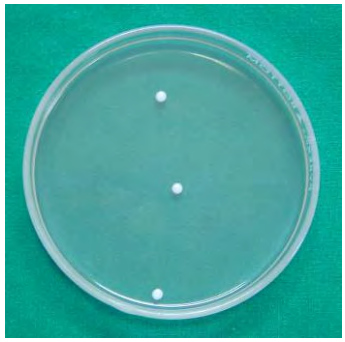
ภาพที่ 12 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 30 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีจำนวนไม่แตกต่างจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น

ภาพที่ 13 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 40 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

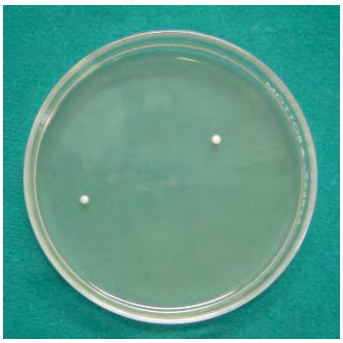
เชื้อตั้งต้น

15 นาที

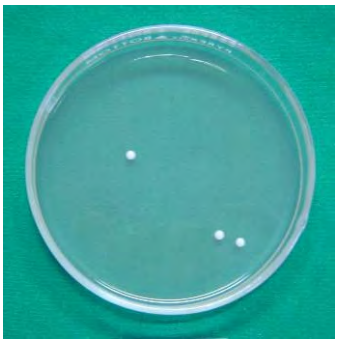
30 นาที



45 นาที



60 นาที



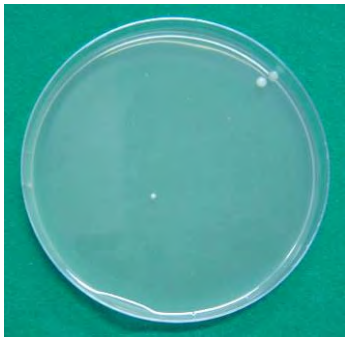
75 นาที

90 นาที

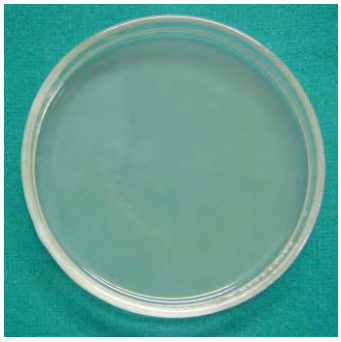
ภาพที่ 13 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 40 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วน โดยที่เวลาสัมผัส 45, 60, 75 และ 90 นาที จะยับยั้งเชื้อได้มากกว่าที่เวลาสัมผัส 15 และ 30 นาที

ภาพที่ 14 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 50 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

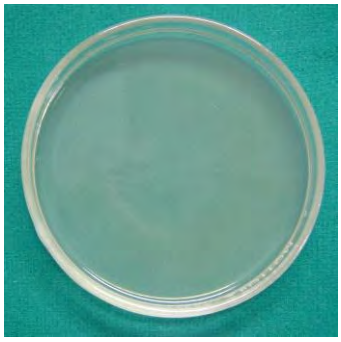
เชื้อตั้งต้น



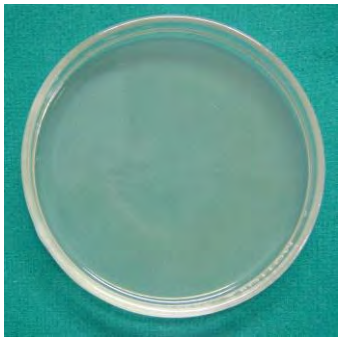
15 นาที



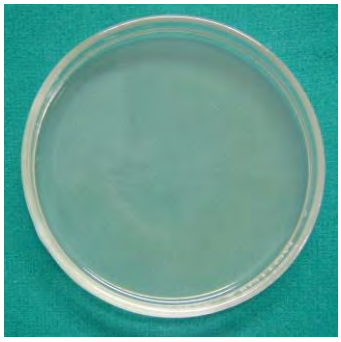
30 นาที



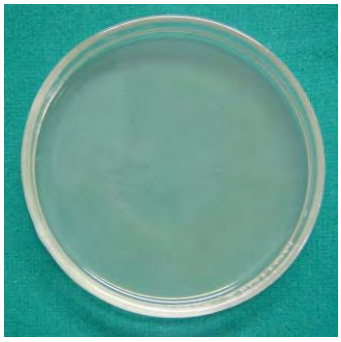
45 นาที



60 นาที



75 นาที

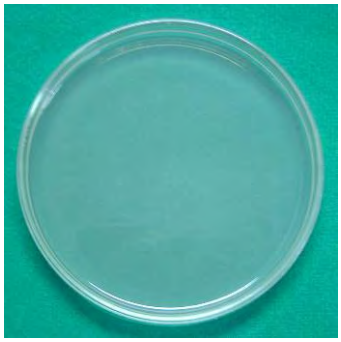


90 นาที

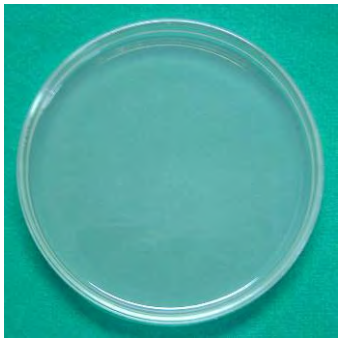
ภาพที่ 14 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้บางส่วนที่เวลาสัมผัส 15 นาที ส่วนที่เวลาสัมผัส 30, 45, 60, 75 และ 90 นาทีนั้น พบว่าน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

ภาพที่ 15 แสดงผลการเพาะเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เวลาสัมผัสต่างๆ ของน้ำลูกยอความเข้มข้น 60 mg/ml เปรียบเทียบกับเชื้อตั้งต้น

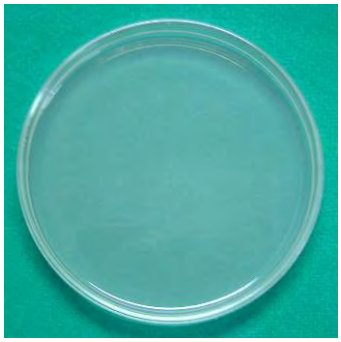
เชื้อตั้งต้น



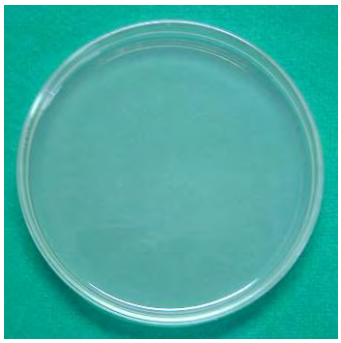
15 นาที



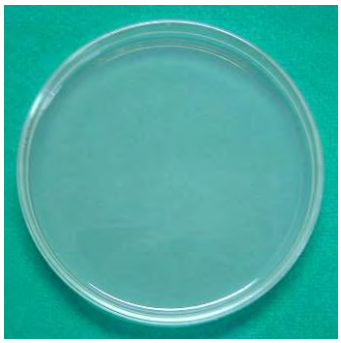
30 นาที



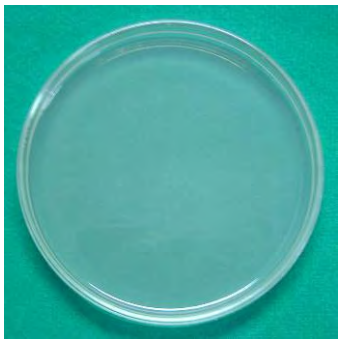
45 นาที



60 นาที



75 นาที



90 นาที

ภาพที่ 15 แสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 60 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในทุกช่วงเวลาสัมผัสคือ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 นาที โดยผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลย

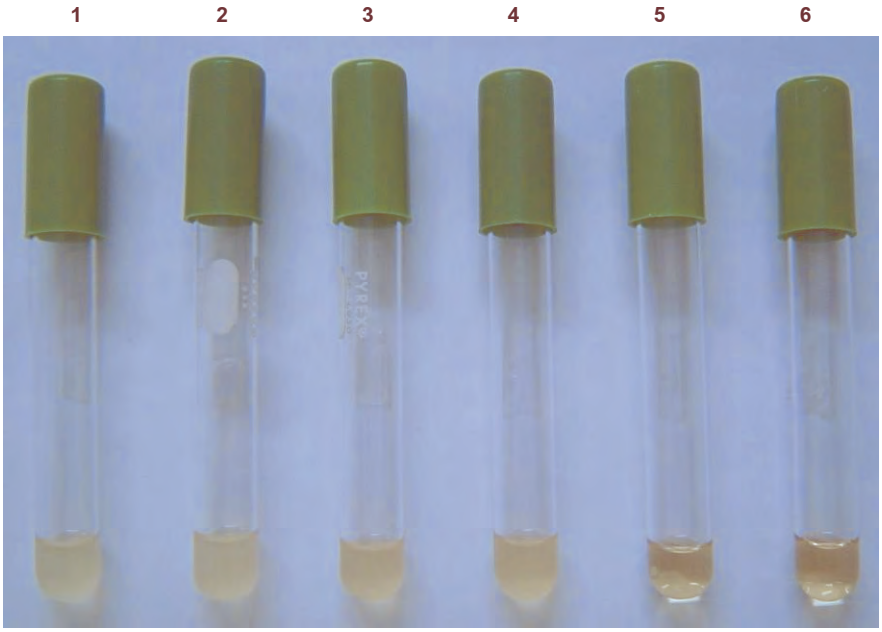
ตารางที่ 7 แสดงผลการสังเกตความขุ่นและใสของน้ำลูกยอในหลอดทดลอง ที่ความเข้มข้นและเวลาสัมผัสต่าง ๆ ของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์

CT(min.)	ลักษณะน้ำลูกยอในหลอดทดลอง					
	Conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
30	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
45	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
60	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
75	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
90	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส	ใส

conc. = concentration CT = contact time

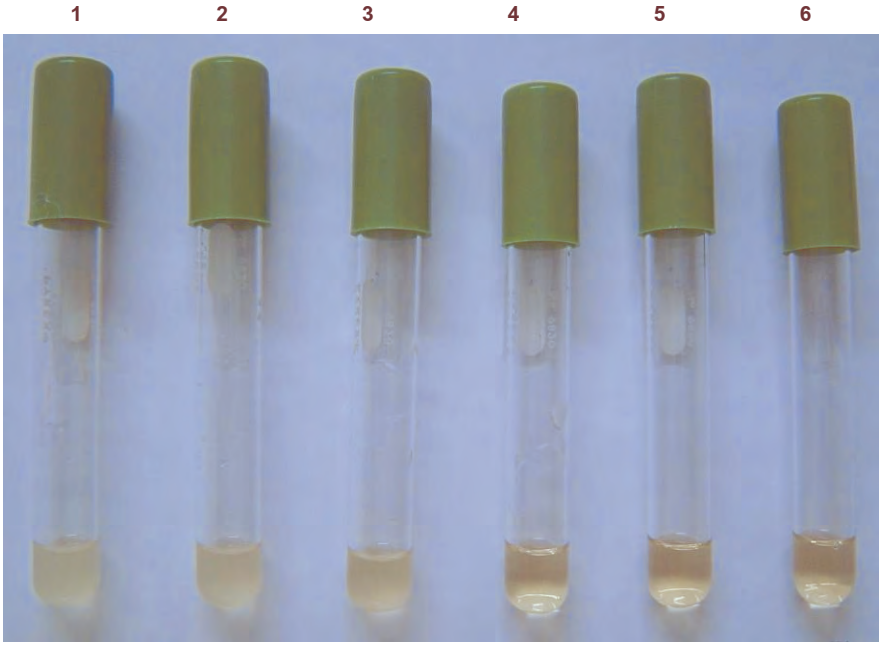
ตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่า ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือ หลอดความเข้มข้น 50 mg/ml ส่วนที่เวลาสัมผัส 90 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือ หลอดความเข้มข้น 40 mg/ml

ภาพที่ 16 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์



ภาพที่ 16 พบว่าที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือ หลอดความเข้มข้น 50 mg/ml ดังนั้น น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml จึงเป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ที่เวลาสัมผัส 15, 30, 45, 60 และ 75 นาที

ภาพที่ 17 แสดงลักษณะความขุ่นและใสของน้ำลูกยอ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาสัมผัส 90 นาที ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์



ภาพที่ 17 พบว่าที่เวลาสัมผัส 90 นาที หลอดที่ใสเป็นหลอดแรกคือ หลอดความเข้มข้น 40 mg/ml ดังนั้น น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 40 mg/ml จึงเป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ที่เวลาสัมผัส 90 นาที

บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น สำหรับการพัฒนาสมุนไพรไทย เพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในช่องปาก มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถ ในการยับยั้งเชื้อของน้ำลูกยอในหลอดทดลอง การศึกษาได้ใช้วิธีที่สะดวกและง่ายในการเตรียมน้ำลูกยอ เพราะถ้าการทดลองได้ผลตามสมมติฐาน ประชาชนโดยทั่วไปก็สามารถเตรียมน้ำลูกยอเองได้ ส่วนเชื้อที่นำมาทดสอบนั้นเลือกแบคทีเรีย แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปทางด้านการก่อโรคปริทันต์ ว่ามีความรุนแรงในการก่อโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง และโรคปริทันต์อักเสบรุกราน และเลือกเชื้อรา แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่มักเป็นสาเหตุของการเกิดโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปาก รวมทั้งอาจเป็นสาเหตุ ทำให้ผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังบางคน ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน

ในอดีตมีผู้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของลูกยอมาบ้างแล้ว วิธีที่ใช้ทดสอบมักเป็น วิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ แล้วดูผลจากการปรากฏบริเวณที่เชื้อไม่เจริญเติบโตซึ่งเป็นวงใส (inhibition zone) วิธีนี้มักใช้เพื่อทดสอบความสามารถเบื้องต้นของสารหรือยา ว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อหรือไม่ การศึกษาในครั้งนี้ เลือกใช้การทดสอบวิธีบรอธไดลูชัน เพื่อให้ทราบทั้งฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า น้ำลูกยอมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ แต่ความเข้มข้นของน้ำลูกยอและเวลาสัมผัส เพื่อการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน โดยพบว่า ความเข้มข้นของน้ำลูกยอเพียง 10 mg/ml ด้วยเวลาสัมผัส 15 นาที สามารถยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ได้ ในขณะที่ต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำลูกยอ ถึง 60 mg/ml ด้วยเวลาสัมผัส 15 นาทีเท่ากัน จึงจะมีผลยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้

จากเกณฑ์ที่ใช้พิจารณาหลอดที่ใสเป็นหลอดแรก เป็นหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้นั้น สำหรับเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ พบว่าหลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือหลอดน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ที่เวลาสัมผัสสั้นที่สุด 15 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด ดังนั้นน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 mg/ml จึงเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถทำลายเชื้อได้ ซึ่งเป็น MBC ฉะนั้นค่า MIC น่าจะอยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 7.5 - 10 mg/ml โดยไม่สามารถบอกค่าที่เฉพาะเจาะจงได้ เนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 7.5 - 10 mg/ml สำหรับเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์นั้น หลอดที่ใสเป็นหลอดแรก คือหลอดน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ในเวลาสัมผัสสั้นที่สุด 15 นาที โดยผลการเพาะเชื้อพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อได้

บางส่วน ดังนั้นน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml จึงเป็นค่า MIC ส่วนค่า MFC (Minimum Fungicidal Concentration) คือน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที ซึ่งได้ผลการเพาะเชื้อเป็นสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด

การที่เลือกใช้จำนวนเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ เท่ากับ 10^6 CFU/ml เพื่อดูผลการยับยั้งเชื้อนั้น เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า จำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่มีอยู่ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบนั้นมักอยู่ในช่วง 10^5 - 10^6 CFU (Socransky และ Haffajee, 2002) จึงเลือกใช้เชื้อจำนวนนี้ในการศึกษา เพื่อจะนำผลที่ได้ ไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป เช่นเดียวกับเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่ใช้ในการศึกษานี้ มีจำนวน 10^4 CFU/ml โดยอาศัยผลการศึกษาของ Epstein และคณะ (1980) ที่ตรวจพบเชื้อราแคนดิดา ในน้ำลายจำนวนมากกว่า 400 CFU/ml ในช่องปากของผู้ที่ติดเชื้อราแคนดิดา และการศึกษาของ Arendorf และ Walker (1979) ที่รายงานจากผลการเพาะเชื้อ ด้วยวิธีอิมพริ้นท์ (implint culture) ว่าเชื้อราแคนดิดา จำนวนมากกว่า 30 CFU/cm^2 ของพื้นที่อิมพริ้นท์ในผู้ที่มีฟันธรรมชาติ หรือมากกว่า 49 CFU/cm^2 ของพื้นที่อิมพริ้นท์ในผู้ที่ใส่ฟันปลอม จะแสดงภาวะของการติดเชื้อ

ถ้าพิจารณาในแง่ของความเป็นกรดและด่างของน้ำลูกยอ ว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อหรือไม่ จึงทดสอบความเป็นกรดและด่างของน้ำลูกยอพบว่า น้ำลูกยอทุกความเข้มข้น มีพีเอช 4.0 ความเป็นกรดของน้ำลูกยอ แม้จะทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสม ต่อการเจริญของเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ แต่ไม่น่าจะเป็นกลไกสำคัญในการยับยั้งเชื้อ เพราะถ้าความเป็นกรดเป็นตัวยับยั้งเชื้อแล้ว ดังนั้นไม่ว่าเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ จะสัมผัสกับน้ำลูกยอที่ความเข้มข้นใดก็ตาม เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ก็ควรถูกยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นเหล่านั้น ส่วนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์นั้น ความเป็นกรดของน้ำลูกยอ ไม่น่าจะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่ในทางตรงกันข้าม กลับส่งเสริมการเจริญของเชื้อ เพราะเชื้อราแคนดิดา จะเจริญได้ดีในภาวะที่เป็นกรด โดย Homma และคณะ (1993) พบว่า การเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์โปรตีเนสของเชื้อ จะเพิ่มขึ้นที่พีเอชเป็นกรดมากขึ้น

Wang และคณะ (2002) สรุปผลการศึกษา จากงานวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของลูกยอว่า สามารถยับยั้งเชื้อ ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา เอสเชอริเชีย โคไล ซาลโมเนลลา และชิเจลลา ซึ่งติดสีแกรมลบ และสามารถยับยั้งเชื้อ สแตฟฟิโลคอคคัส ออเรียส บาซิลลัส สับทิลิซ ซึ่งติดสีแกรมบวก แสดงว่าลูกยอมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ค่อนข้างกว้าง ทั้งชนิดติดสีแกรมบวกและแกรมลบ ดังนั้นผลการศึกษาครั้งนี้ ที่น้ำลูกยอสามารถยับยั้ง เชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ได้ จึงมีความสอดคล้องกัน

การศึกษาผลการยับยั้งเชื้อ ของสารสกัดจากลูกยอครั้งนี้ ได้ผลขัดแย้งกับการศึกษาของ Locher และคณะ (1995) ที่พบว่า สารสกัดจากลูกยอ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก ความแตกต่างของวิธีการศึกษา ซึ่งใช้วิธีการแพร่ในวุ้นเลี้ยงเชื้อ แต่การศึกษานี้ใช้วิธีบรอธไดลูชัน หรืออาจมีความแตกต่าง ของวิธีสกัดแยกสารจากลูกยอ ซึ่ง

ใช้อะซีโตไนตริล ในการสกัดแยกสาร แต่การศึกษานี้ใช้น้ำจากลูกยอ โดยไม่ใช้สารเคมีในการสกัดแยกสาร จึงอาจเป็นไปได้ว่า สารประกอบในลูกยอ ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้นั้น เป็นสารที่ไม่ละลายในอะซีโตไนตริล

Wang และคณะ (2002) สรุปว่า ลูกยอสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากมีสารประกอบที่สำคัญในลูกยอ คือ อะคิวบิน (acubin) แอสเปอรูโลไซด์ (asperuloside) และอะลิซาริน (alizarin) นอกจากนี้ อาภรณ์ เจริญพิริยะ (2545) รายงานการยับยั้งเชื้อของลูกยอว่า แบคทีเรียอาจถูกยับยั้งโดย สารพอลิแซ็กคาไรด์ กรดออร์แกนิก (organic acid) สโคโปเลติน หรือ กรดเบนโซอิก ส่วนเชื้อราอาจถูกยับยั้งโดย กรดออกทาโนอิก สโคโปเลติน หรือ กรดเบนโซอิก จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า น้ำลูกยอมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้งแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ผลการยับยั้งเชื้อที่ได้ น่าจะมาจากสารประกอบหลายชนิดในลูกยอร่วมกัน แต่ยังไม่สามารถให้คำตอบได้ว่า สารประกอบใดในลูกยอ ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อ เนื่องจากการศึกษา ไม่ได้ทำการสกัดแยกสารบริสุทธิ์จากลูกยอ การศึกษาในอนาคตถ้าสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ ก็อาจได้คำตอบที่ชัดเจนว่า สารตัวใดมีฤทธิ์อย่างไร ในการยับยั้งเชื้อ

ผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางคลินิกได้ โดยอาจพัฒนาน้ำลูกยอเป็นสารออกฤทธิ์หลัก เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปาก โดยหวังผลว่า จะช่วยยับยั้งยีสต์ในช่องปากได้ เนื่องจากเยื่อบุข้างแก้ม เป็นบริเวณที่มียีสต์อาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก อาจใช้เป็นส่วนประกอบในยาสีฟัน หรือใช้เป็นน้ำยาฉีดล้างในร่องลึกปริทันต์โดยตรง เพื่อช่วยยับยั้งเชื้อทั้งแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในร่องลึกปริทันต์

การนำน้ำลูกยอมาพัฒนา เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ในช่องปากนั้น จะต้องมีข้อมูลหรือการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เกี่ยวกับความเป็นพิษของน้ำลูกยอ ต่อเซลล์เนื้อเยื่อในช่องปากเสียก่อน Boonanantanasarn และคณะ (2006) ศึกษาความเป็นพิษ ของสารสกัดจากลูกยอ ต่อเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสแควมัส และเซลล์ปกติคือ เซลล์เนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์มนุษย์ โดยวิธี เอ็มทีที พบว่า สารสกัดจากลูกยอที่ความเข้มข้น 25 mg/ml มีความเป็นพิษ ต่อเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสแควมัสมากที่สุด คือทำให้เซลล์ตายแบบเซลล์เดี่ยวแตกตายเอง โดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ แต่เนื่องจากวิธีการสกัดสารจากลูกยอ แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นสารสกัดจากลูกยอที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ไม่เหมือนกับน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ที่ใช้ในการศึกษานี้ จึงไม่สามารถสรุปว่า น้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 25 mg/ml เป็นพิษต่อเซลล์ปกติหรือไม่ ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของน้ำลูกยอในการศึกษาต่อไป

ข้อจำกัดในการศึกษาครั้งนี้ เกิดจากลูกยอที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ไม่ได้นำมาจากแหล่งเดียวกัน เนื่องจากต้องใช้ลูกยอจำนวนมาก จึงจะได้ปริมาณน้ำลูกยอเพียงพอ ที่จะนำมาทำให้แห้งด้วยความเย็น จนกลายเป็นผง เพื่อเก็บไว้ใช้สำหรับการทดลอง อย่างไรก็ตาม แม้จะเป็นลูกยอที่มาจากแหล่งเดียวกัน ก็ยังคงมีความต่าง ระหว่างลูกยอแต่ละลูกอีกเช่นกัน ในแง่ของปริมาณสารประกอบทางเคมี เพราะการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้สกัดแยกสารบริสุทธิ์ในลูกยอ (pure

extract) มาทำการศึกษา สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของผงลูกยอ ที่นำมาทำการทดลองในแต่ละครั้ง จึงอาจไม่เท่ากัน ดังนั้นผลการทดลองนี้ ที่พบความผันแปรของการทดลองทั้ง 3 ครั้ง และมีความแตกต่าง ของเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนั้น อาจเกิดจากผงลูกยอที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้ง มีปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแตกต่างกัน นอกจากนี้ ผลการยับยั้งเชื้อที่ได้จากการศึกษานี้ ยังไม่สามารถสรุปรวมถึงเชื้อ แอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์อื่นได้ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไปว่า น้ำลูกยอสามารถยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์นอกเหนือจากการศึกษาครั้งนี้ได้หรือไม่

สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษานี้ เป็นไปตามสมมติฐานของการวิจัย คือน้ำลูกยอมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ โดยผลการยับยั้งเชื้อ แปรไปตามความเข้มข้นของน้ำลูกยอและเวลาสัมผัส ผลการศึกษาพบว่า ค่า MBC สำหรับเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ คือน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที ค่า MIC สำหรับเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ คือน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที และค่า MFC สำหรับเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ คือน้ำลูกยอที่ความเข้มข้น 60 mg/ml ที่เวลาสัมผัส 15 นาที

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้เราพบว่า น้ำลูกยอมีความสามารถยับยั้งเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ในหลอดทดลองได้ แต่ก่อนที่จะนำน้ำลูกยอมาพัฒนา เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมต่อไปได้นั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ในด้านของความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำมาใช้ และความคงสภาพของยา ก่อนที่จะนำมาศึกษาในมนุษย์ต่อไป และการศึกษานี้ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าสารประกอบชนิดใดในน้ำลูกยอ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในการศึกษาต่อไปจึงควรทำการศึกษา เพื่อแยกส่วนของสารในน้ำลูกยอ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ให้เป็นสารบริสุทธิ์ เพื่อสามารถพัฒนาไปใช้เป็นสารเคมีบำบัดเฉพาะที่ ในการร่วมรักษาโรคปริทันต์ และโรคติดเชื้อราในช่องปากต่อไปในอนาคต

ในปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจ ในการนำพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์กันมาก โดยที่บางชนิด ยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนเลย แต่ลูกยอนับได้ว่าเป็นพืชสมุนไพร ที่น่าสนใจมากชนิดหนึ่ง ที่มีหลักฐานการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ ในทางการแพทย์มากพอสมควร รวมทั้งการศึกษาในครั้งนี้เช่นกัน ที่สนับสนุนประโยชน์ของลูกยอ ในการนำมาใช้ยับยั้งเชื้อทางทันตกรรมได้ด้วย จึงกล่าวได้ว่า ลูกยอเป็นพืชสมุนไพรที่มี

คุณประโยชน์จริงที่ควรได้รับการศึกษาต่อไป เพื่อสามารถนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมสำหรับใช้ในช่องปากได้จริง

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

โชติกา บุญหลง อัมพร คุณเอนก และ จารีย์ บันสิทธิ์. 2544. การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากสมุนไพรไทยต่อเชื้อราโรคผิวหนัง. วารสารเมดิคอลไทม์ 2(31): 27-9.

ปัทมาวดี เสตะกัณณะ จารีย์ บันสิทธิ์ และ ธิดารัตน์ บุญรอด. 2545. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสมุนไพรไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 44(2): 110-24.

ฝ่ายวิชาการ สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2545. ลูกยอมีประโยชน์อย่างไร. แหล่งที่มา: http://ittm.dtam.moph.go.th/data_all/herbs/herbal15.htm (7 มีนาคม 2549).

มงคล แก้วเทพ. 2544. ยอ (Indian Mulberry). ใน จุลสารข้อมูลสมุนไพร, หน้า 11-17. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

มยุรา สุนย์วีระ วิลาวรรณ ผดังทิว และ เกษม สร้อยทอง. 2537. การทดสอบความเป็นพิษของพืชสมุนไพรไทยบางชนิดต่อด้วงถั่วเขียว (Callosobruchus muculatus F.). ในรายงานการสัมมนาเรื่องการฟื้นฟูพืชสมุนไพรเพื่อสังคมไทย, หน้า 2-10. 13-14 มกราคม 2537 ณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรคืออะไร. ใน สมุนไพรน่ารู้, หน้า 3-4. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อนงค์ เทพสุวรรณ์ และ วรรณี คูสำราญ. 2540. ผลของใบขี้เหล็ก ใบยอ และใบบัวบก ต่อเอนไซม์ในระบบเมตาบอลิสมของสารก่อมะเร็งในตับหนู. วารสารกรมการแพทย์ 22(10): 425-37.

อาภรณ์ เจริญพิริยะ. 2545. ผลกึ่งเฉียบพลันของสารสกัดผลยอต่อเอนไซม์ ไซโตโครม พี450 ในตับ และค่าเคมีคลินิกในเลือดของหนูขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อารีรัตน์ ลออปักษา สุรัตนา อำนวยผล และ วิเชียร จงบุญประเสริฐ. 2531. การศึกษาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ (ตอนที่1). ไทยเภสัชสาร 13(1): 23-36.

ภาษาอังกฤษ

Arendorf, T. M., Walker, D. M. 1979. Oral candidal populations in health and disease. Br Dent J. 147: 267-72.

Arendorf, T. M., Walker, D. M. 1980. The prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in man. Arch Oral Biol. 25: 1-10.

Asikainen, S., Alauusua, S., and Saxan, L. 1991. Recovery of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from teeth, tongue and saliva. J Periodontol. 62: 203-6.

Birkedal-Hansen, H., Caufield, P. W., Wannemuehler, Y. M., et al. 1982. A sensitive screening assay for epitheliotoxins produced by oral microorganisms. J Dent Res. 61: 192 abstract number 125.

Boonanantanasarn, K., Chunhabundit, P., Janebodin, K., et al. 2006. Lethal effect of *Morinda citrifolia* L. extracts on oral squamous carcinoma cells. J Dent Assoc Thai. 55: 87-95.

Borg, M., and Ruchel, R. 1988. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic Candida spp. During experiment infection of oral mucosa. Infect Immun. 56: 626-31.

Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. 1994. Biology of microorganisms, 7th ed. NJ: Pentice hall, Englewood Cloffs: 118-24.

Budtz-Jorgensen, E. 1971. Proteolytic activity of Candida spp. as related to the pathogenesis of denture stomatitis. Sabouraudia. 12: 266-71.

Cambie, R. C., Ash, J. 1994. Fijian medicinal plants. CSIRO Australia: 257-8.

Chattin, B. R., Ishihara, K., Okuda, K., et al. 1999. Specific microbial colonizations in the periodontal sites of HIV-infected subjects. Microbiol Immunol. 43(9): 847-52.

Christersson, L. A., Albini, B., Zambon, J. J., et al. 1983. Demonstration of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in gingiva of localized juvenile periodontitis lesions. J Dent Res. 62: 198 abstract number 255.

Chung, H.-J., Chung, C.-P., Son, S.-H., and Nisengard, R. J. 1989. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. J Periodontol. 60: 506-11.

Collins-Lech, C., Kalbfleisch, J. H., Franson, T. R., Sohnle, P. G. 1984. Inhibition by sugars of *Candida albicans* adherence to human buccal mucosal cells and corneocytes in vitro. Infect Immun. 46: 831-4.

Crandall, M., and Edwards, J. E.,Jr. 1987. Segregation of proteinase-negative mutants from heterozygous *Candida albicans*. J Gen Microbiol. 133: 2817-24.

Diamond, R. D., Oppenheim, F., Nakagawa, Y., et al. 1980. Properties of a product of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae that inhibits contact between the fungi and human neutrophils in vitro. J Immunol. 125: 2797-804.

Duncan, S. H., Flint, H. J., Stewart, C. S. 1998. Inhibitory activity of gut bacteria against *Escherichia coli* 0157 mediated by dietary plant metabolites. FEMS Microbiol Lett. 164: 283-5.

Eisenmann, A. C., Eisenmann, R., Sousa, O., and Slots, J. 1983. Microbiological study of localized juvenile periodontitis in Panama. J Clin Periodontol. 54: 712-3.

Epstein, J. B., Pearsall, N. N., Truelove, E. L. 1980. Quantitative relationships between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. J Clin Microbiol. 12: 475-6.

Flemmig, T. F., Milian, E., Kopp, C., et al. 1998. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. J Clin Periodontol. 25: 1-10.

Fallon, K., Bausch, K., Noonan, J., et al. 1997. Role of aspartic proteases in disseminated *Candida albicans* infection in mice. Infect Immun. 65: 551-6.

Genco, R. J., Cianciola, L. J., Rosling, B. 1981. Treatment of localized juvenile periodontitis. J Dent Res. 60 (spec iss A): Abstract 872.

Gjermo, P. 1993. Contemporary use of agents in the control of progressive periodontitis. Int Dent J. 43: 499-505.

Gonzalez, S., Lobos, I., Guajardo, A., et al. 1987. Yeasts in juvenile periodontitis. J Periodontol. 58: 119-24.

Haffajee, A. D., Socransky, S. S., Dibart, S., et al. 1996. Response to periodontal therapy in patients with high or low levels of *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *P.nigrescens* and *B.forsythus*. J Clin Periodontol. 23: 336-45.

Hannula, J., Dogan, B., Slots, J., et al. 2001. Subgingival strains of *Candida albicans* in relation to geographical origin and occurrence of periodontal pathogenic bacteria. Oral Microbiol Immunol. 16: 113-8.

Helovuo, H., Hakkarainen, K., and Paunio, K. 1993. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. Oral Microbiol Immunol. 8: 75-9.

Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyano, T., and Umezawa, K. 1993. Induction of normal phenotypes in *ras* transformed cells by damnacanthal from *Morinda citrifolia*. Cancer Lett. 73: 161-6.

Hirazumi, A., Furusawa, E. 1999. An immunomodulatory polysaccharide rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumor activity. Phytother Res. 13: 380-7.

Holmstrup, P., Samaranayake, L. P. 1990. Acute and AIDS-related oral candidosis. In: Samaranayake, L. P., MacFarlane, T. W. (eds). Oral Candidosis. London: Wright-Butterworth. 133-55.

Homma, M., Chibana, H., and Tanaka, K. 1993. Induction of extracellular proteinase in *Candida albicans*. J Gen Microbiol. 139: 1187-93.

Kaminishi, H., Hagihara, Y., Hayashi, S., et al. 1986. Isolation and characteristics of collagenolytic enzyme produced by *Candida albicans*. Infect Immun. 53: 312-6.

Kaminishi, H., Miyaguchi, H., Takami, T., et al. 1995. Degradation of humoral host defense by *Candida albicans* proteinase. Infect Immun. 63: 984-8.

Kamma, J. J., Nakou, M., and Baehni, P. C. 1999. Clinical and microbiological characteristics of smokers with early onset periodontitis. J Periodontal Res. 34(1): 25-33.

Kiley, P., Holt, S. C. 1980. Characterization of the lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 and N27. Infect Immun. 30: 862-73.

Kimura, L. H., Pearsall, N. N. 1980. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. Infect Immun. 28: 464-8.

Kleinfelder, J. W., Muller, R. F., Lange, D. E. 2000. Fluorquinolones in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. J Periodontol. 71: 202-8.

Krogh, P., Holmstrup, P., Thorn, J. J., et al. 1987. Yeast species and biotypes associated with oral leukoplakia and lichen planus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 63: 48-54.

Legal, L., Chappe, B., Jallon, J. M. 1994. Molecular basis of *Morinda citrifolia* L.: toxicity on Drosophila. J Chem Ecol. 20(8): 1931-43.

Leung, W. K., Dassanayake, R. S., Yau, J. Y., et al. 2000. Oral colonization, phenotypic, and genotypic profiles of Candida species in irradiated, dentate,

xerostomic nasopharyngeal carcinoma survivors. J Clin Microbiol. 38(6): 2219-26.

Listgarten, M. A., Lai, C. H., and Evain, C. I. 1981. Comparative antibody titres to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in juvenile periodontitis, chronic periodontitis and periodontally healthy subjects. J Clin Periodontol. 8: 154-64.

Listgarten, M. A., Lai, C. H., and Young, V. 1993. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. J Periodontol. 64: 155-61.

Locher, C. P., Burch, M. T., Mower, H. F., et al. 1995. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 49: 23-32.

Lombardi, G., Vismara, D., Piccolella, E., et al. 1985. A non-specific inhibitor produced by *Candida albicans* activated T cells impairs cell proliferation by inhibiting interleukin-1 production. Clin Exp Immunol. 60: 303-10.

Lundstrom, I. M. C., Anneroth, G. B., Holmberg, K. 1984. Candida in patients with oral lichen planus. Int J Oral Surg. 13: 226-38.

MacDonald, F., and Odds, F. C. 1980a. Inducible proteinase of *Candida albicans* in diagnostic serology and in the pathogenesis of systemic candidosis. J Med Microbiol. 13: 423-35.

MacDonald, F., and Odds, F. C. 1983. Virulence for mice of a proteinase-secreting strain of *Candida albicans* and a proteinase-deficient mutant. J Gen Microbiol. 129: 431-8.

McClatchey, W. 2002. From Polynesian healers to health food stores : Changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). Integrative cancer therapies. 1(2): 110-20.

Mombelli, A. 2002. Chemotherapy of periodontal diseases. In clinical periodontology and implant dentistry eds. Lindhe J. Karring T. and Lang NP. Munksgaard Copenhagen.

Moorthy, N. K., and Reddy, G. S. 1970. Preliminary phytochemical and pharmacological study of *Morinda citrifolia* Linn. Antiseptic. 67(3): 167-71.

Muller, H. P., Lange, D. E., Muller, R. F. 1993. A 2-year study of adjunctive minocycline-HCL in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. J periodontol. 64: 509-19.

Nakanishi, K., Sasaki, S. I., Kiang, A. K., et al. 1965. Phytochemical survey of Malaysian plants. Preliminary chemical and pharmacological screening. Chem pharm Bull.
13(7): 882-90.

Negi, M., Tsuboi, R., Matsui, T., Ogawa, H. 1984. Isolation and characterization of proteinase from *Candida albicans*: Substrate specificity. J Invest Dermatol. 83: 32-6.

Nisengard, R. J., Newman, M. G. 1994. Oral microbiology and immunology. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders company.

Nowotny, A., Behling, U. H., Hammond, B., et al. 1982. Release of toxic microvesicles by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect Immun. 37: 151-4.

Papapanou, P. N., Baelum, V., Luan, W. M., et al. 1997. Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. J periodontol. 68: 651-66.

Pavicic, M.J.A.M.P., van Winkelhoff, A. J., Douque, N. H., et al. 1994. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. J Clin Periodontol. 21: 107-12.

Polonelli, L., and Morace, G. 1986. Reevaluation of the yeast killer phenomenon. J Clin Microbiol. 24: 866-9.

Robertson, P. B., Lantz, M., Marucha, P. T., et al. 1982. Collaginolytic activity associated with Bacteroides species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Periodontal Res. 17: 275-83.

Ruchel, R., Tegeler, R., and Trost, M. 1982. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. Sabouraudia. 20: 233-44.

Ruchel, R. 1990. Virulence factors of Candida species. In: Samaranayake, L. P., MacFarlane, T. W. (eds). Oral Candidosis. London: Wright-Butterworth: 47-65.

Samaranayake, L. P., Hughes, A., and MacFarlane, T. W. 1984. The proteolytic potential of *Candida albicans* in human saliva supplemented with glucose. J Med Microbiol. 17: 13-22.

Samaranayake, L. P., Hughes, A., Weetman, D. A., and MacFarlane, T. W. 1986. Growth and acid production of Candida species in human saliva supplemented with glucose. J Oral Pathol. 15: 251-4.

Saxen, L., Asikainen, S. 1993. Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. J Clin Periodontol. 20: 166-71.

Shenker, B. J., Kushner, M. E., and Tsai, C. C. 1982a. Inhibition of fibroblast proliferation by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect Immun. 38: 986-92.

Shenker, B. J., McArthur, W. P., and Tsai, C. C. 1982b. Immune suppression induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. I. Effects on human peripheral blood lymphocyte responses to mitogens and antigens. J Immunol. 128: 148-54.

Slots, J., Reynolds, H. S., and Genco, R. J. 1980. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases: a cross-sectional microbiological investigation. Infect Immun. 29: 1013-20.

Slots, J. 1982. Selective media for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Clin Microbiol. 15: 606-9.

Slots, J., Rosling, B. 1983. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. J Clin Periodontol. 10: 465-86.

Slots, J., Rams, T. E., Listgarten, M. A. 1988. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. Oral Microbiol Immunol. 3: 47-52.

Slots, J., Ting, M. 1999. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. Periodontol 2000. 20: 82-121.

Smith, A. C. 1988. Flora Vitiensis Nova, Volume 4, Morinda Pacific Tropical Botanical Garden, Lawai, Hawai'i. 332-41.

Socransky, S. S.,Haffajee, A. D. 2002. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 28: 12-55.

Song, X., Sun, J., Hansen, B. F., Olsen, I. 2003. Oral distribution of genera, species, and biotypes of yeasts in patients with marginal periodontitis. Microbial Ecology in Health and Disease. 15: 114-9.

Staib, F. 1965. Serum-proteins as nitrogen source for yeastlike fungi. Sabourandia. 4: 187-93.

Stenderup, A. 1990. Oral mycology. Acta Odontol Scand. 48(1): 3-10.

Sundarrao, K., Burrows, I., Kuduk, M., et al. 1993. Preliminary screening of antibacterial and antitumor activities of Papua New Guinean native medicinal plants. Int J Pharmacog. 31(1): 3-6.

Tsai, C. C., Shenker, B. J., DiRienzo, J. M., et al. 1984. Extraction and isolation of a leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* with polymyxin B. Infect Immun. 43: 700-5.

Umezawa, K. 1994. Isolation of 1-methoxy-2-formyl-3-hydroxyanthraquinone from *Morinda citrifolia* and neoplasm inhibitors containing the same. JP Patent. 06, 87, 736.

Univercity of Hawaii at Manoa. 2005. The Noni Web Site. Available from: http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/chemcal_constituents.asp. [2006,Jan.30]

Van Dyke, T., Bartholomew, E., Genco, R. J., et al. 1982. Inhibition of neutrophil chemotaxis by soluble bacterial products. J Periodontol. 53: 502-8.

van Winkelhoff, A. J., Tijhof, C. J., de Graaff, J. 1992. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. J Periodontol. 63: 52-7.

Wang, M., Kikuzaki, H., Csiszar, K., et al. 1999. Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). J Agric Food Chem. 47: 4880-2.

Wang, M. Y., West, B. J., Jensen, C. J., et al. 2002. *Morinda citrifolia* (noni): A literature review and recent advances in Noni research. Acta Pharmacol Sin. 23(12): 1127-41.

Whistler, W. 1992. Tongan herbal medicine. Isle Botanica, Honolulu, Hawaii: 89-90.

Wilson, M., Kamin, S., Harvey, W. 1985. Bone resorbing activity of purified capsular material from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Periodontal Res. 20: 484-91.

Younos, C., Rolland, A., Fluerentin, J., Lanhers, M., Misslin, R., and Mortier, F. 1990. Analgesic and behavioral effects of *morinda citrifolia*. Planta Medica. 56: 430-4.

Zambon, J. J., Slots, J., and Genco, R. J. 1983. Serology of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and serotype distribution in human periodontal disease. Infect Immun. 14: 19-27.

Zambon, J. J. 1985. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. J Clin Periodontol. 12: 1-20.

Zambon, J. J., Umemoto, T., deNardin, E., Nakazawa, F., Christersson, L. A., and Genco, R. J. 1988. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of human periodontal disease. Adv Dent Res. 2: 269-74.

Zin, Z. M., Abdul Hamid, A., and Osman, A. 2002. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. Food Chem. 78(2): 227-31.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ตาราง ก แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำลูกยอ เฉพาะสารที่มีการศึกษาว่าเป็นสารออกฤทธิ์ในการรักษาโรค (ดัดแปลงจาก University of Hawaii at Manoa, www.ctahr.hawaii.edu/noni/chemical_constituents.asp)

สารประกอบ	คุณสมบัติการออกฤทธิ์
Alkaloids (xeronine)	เสริมการทำงานของเอนไซม์ และจับตัวกับกรดอะมิโนเพื่อสร้างโปรตีน
Polysaccharides (glucuronic acid, galactose, arabinose, glycosides, rhamose, trisaccharide fatty acid ester)	กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านการเกิดเนื้องอกและมะเร็ง
Scopoletin	ขยายหลอดเลือดและลดความดันโลหิต ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ต้านการอักเสบ ต้านฮีสตามีน ลดอาการปวด ลดอาการโรคภูมิแพ้
Vitamins and minerals (magnesium, iron, potassium, selenium, zinc, copper, sulfur, vitamin C)	ช่วยเสริมอาหารและเพิ่มพลังงานของร่างกาย

ตาราง ข แสดงองค์ประกอบทางเคมีของลูกยอที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ (อาภรณ์ เจริญพิริยะ, 2545)

สารประกอบ	คุณสมบัติการออกฤทธิ์
Polysaccharides :	
glucuronic acid, galactose, arabinose, glycosides, rhamose, trisaccharide fatty acid ester	แบคทีเรีย
Organic acid :	
acetic acid	แบคทีเรีย
ascorbic acid	แบคทีเรีย
Fatty acids and lipids :	
octanoic acid	เชื้อราแคนดิดา
Coumarins :	
scopoletin	แบคทีเรียและเชื้อรา
Phenols and phenolic acids :	
benzoic acid	แบคทีเรียและเชื้อรา
Phenylpropanoids :	
eugenol	ยีสต์

ตาราง ค แสดงจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 1

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	7,512,000	1,356,000	1,600	0	0	0
30	8,700,000	400	600	0	0	0
45	7,080,000	0	0	0	0	0
60	6,510,000	0	0	0	0	0
75	4,320,000	0	0	0	0	0
90	3,210,000	0	0	0	0	0

* จำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 11,580,645.16 CFU/ml

ตาราง ง แสดงจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 2

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	6,504,000	4,198,400	24,400	0	0	0
30	6,560,000	2,000	1,000	0	0	0
45	6,380,800	0	0	0	0	0
60	4,627,200	0	0	0	0	0
75	2,809,600	0	0	0	0	0
90	2,566,400	0	0	0	0	0

* จำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 11,096,774.19 CFU/ml

ตาราง จ แสดงจำนวนเชื้อแอกทิโนบาซิลลัส แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 3

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
15	8,184,000	4,691,200	200	0	0	0
30	7,008,000	200	200	0	0	0
45	6,380,800	0	0	0	0	0
60	6,412,800	0	0	0	0	0
75	4,307,200	0	0	0	0	0
90	3,225,600	0	0	0	0	0

* จำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 11,096,774.19 CFU/ml

ตาราง ฉ แสดงจำนวนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 1

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	14,000	32,200	13,400	4,000	0	0
30	14,800	20,000	9,600	7,600	0	0
45	32,000	20,400	3,200	600	0	0
60	16,000	18,200	2,800	200	0	0
75	15,400	20,000	400	600	0	0
90	13,800	12,800	400	0	0	0

* Conc. ที่ 10-30 mg/ml มีจำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 12,195.12 CFU/ml

* Conc. ที่ 40-60 mg/ml มีจำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 19,512.19 CFU/ml

ตาราง ช แสดงจำนวนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 2

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	56,800	48,400	42,200	3,800	200	0
30	31,400	49,200	50,000	4,200	0	0
45	41,800	46,800	31,600	400	0	0
60	39,600	38,400	28,000	200	0	0
75	36,600	24,400	24,200	1,000	0	0
90	27,200	33,000	20,600	200	0	0

* Conc. ที่ 10-30 mg/ml มีจำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 21,904.76 CFU/ml

* Conc. ที่ 40-60 mg/ml มีจำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 23,809.52 CFU/ml

ตาราง ซ แสดงจำนวนเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เหลือในช่วงเวลาสัมผัสและความเข้มข้นของน้ำลูกยอต่างๆ เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อตั้งต้นในการทดลองครั้งที่ 3

CT (min.)	Conc. (mg/ml)					
	10	20	30	40	50	60
15	30,600	30,400	29,600	200	0	0
30	38,000	32,600	27,600	0	0	0
45	32,800	33,600	25,600	200	0	0
60	24,600	32,200	25,400	0	0	0
75	23,400	36,000	22,600	0	0	0
90	26,400	31,600	32,600	0	0	0

* จำนวนเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 25,714.29 CFU/ml

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางทัศนีย์ บุษราคัมรุหะ เกิดเมื่อวันที่ 1 กันยายน 2508 ที่โรงพยาบาลหัวเฉียว กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสาขาทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2532 และได้เข้ารับราชการที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในตำแหน่งอาจารย์ เป็นเวลา 3 ปี ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2532-2535 จากนั้นได้ลาออกจากราชการเข้าทำงานในคลินิกเอกชน จนกระทั่งลาศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547 ปัจจุบันเป็นทันตแพทย์ในคลินิกทันตกรรมนอกเวลาของคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศูนย์การแพทย์กาญจนาภิเษก และโรงพยาบาลบางกรวย