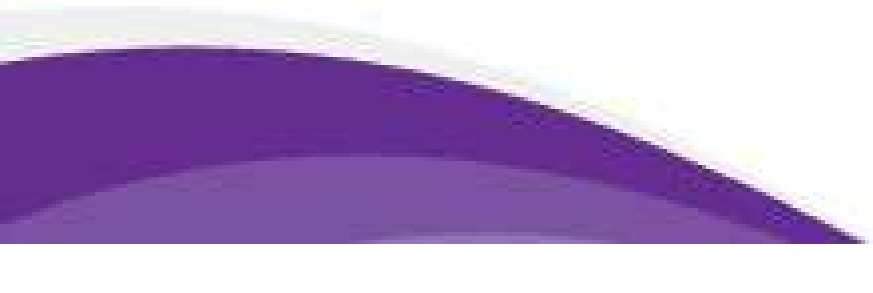




ไบโอฟิล์ม กับ การเกิดโรคปริทันต์อักเสบ

รศ.ดร.นันทนา อรุณฤกษ์
ภาควิชาโสตศูจมูก คณະกัณตแพทยศาสตร
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



ไบโอฟิล์ม กับ การเกิดโรคปริทันต์อักเสบ

รศ.ดร.นันทนา อรุณฤกษ์
ภาควิชาโอบุสวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ชื่อหนังสือ : ไบโอฟิล์มกับการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ

ผู้เขียน : รองศาสตราจารย์ ดร. นันทนา อรุณฤกษ์
 ภาควิชาโษษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์
 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนาคลองเตยเหนือ กทม 10110

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ

นันทนา อรุณฤกษ์

พิมพ์ครั้งที่ 1.-- กรุงเทพฯ : แดเน็กซ์อินเตอร์คอร์ปอเรชั่น, 2560.

156 หน้า.

617.632

ISBN : 978-616-445-247-3

พิมพ์ครั้งที่ 1: กรกฎาคม 2560

ราคา : 175 บาท

บรรณาธิการ: รศ.ดร. นันทนา อรุณฤกษ์

พิมพ์ที่: PROTEXTS.COM

บริษัท แดเน็กซ์ อินเตอร์คอร์ปอเรชั่น จำกัด

99/164 หมู่ 2 ถนนแจ้งวัฒนะ แขวงทุ่งสองห้อง เขตหลักสี่ กรุงเทพมหานคร 10210

โทร.02-575-1791-3 แฟกซ์. 02-575-1791-3 กด 16

E-mail: ProTexts@hotmail.com Website: www.ProTexts.com

สงวนลิขสิทธิ์ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์

การผลิตและการลอกเลียนหนังสือเล่มนี้ไม่ว่ารูปแบบใดทั้งสิ้นต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก
ผู้แต่งหรือผู้แทนเท่านั้น

บทนำ

หนังสือ “ไบโอฟิล์มในช่องปากกับการก่อโรคปริทันต์อักเสบ” เล่มนี้ เรียบเรียงขึ้นเพื่อเป็นหนังสือประกอบการเรียนวิชา จุลชีววิทยาช่องปาก ในระดับอุดมศึกษา ระดับหลังปริญญา ผู้ศึกษาด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตลอดจนบุคลากรทันตสาธารณสุข โดยจะมีเนื้อหาสำคัญเกี่ยวกับการเริ่มก่อตัวของแบคทีเรียในช่องปากซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปาก ก่อตัวเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์หรือไบโอฟิล์มในช่องปาก และสุดท้ายได้กลายเป็นไบโอฟิล์มที่มีการปรับเปลี่ยนชนิดและองค์ประกอบของจุลินทรีย์ที่สามารถทำให้อยู่ในสภาวะที่ก่อโรคปริทันต์และจนกระทั่งเกิดเป็น โรคปริทันต์อักเสบได้ โดยกล่าวถึงบทบาทของปัจจัยความรุนแรงของจุลินทรีย์ที่เป็นบทบาทสำคัญในการก่อโรค อีกทั้งยังกล่าวถึงบทบาทสำคัญของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิดโรค กับการเชื่อมโยงไปสู่พยาธิสภาพที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบได้ ในเวลาต่อมา ถ้าไม่ได้ทำการรักษาอย่างถูกต้อง

คำอธิบายนภาษาไทยในหนังสือเล่มนี้ ใช้หลักตามพจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน ฉบับ พ.ศ. 2544 และศัพท์บัญญัติทางทันตแพทย์ ฉบับแก้ไขปรับปรุง พ.ศ. 2554

ขอขอบคุณ บิดา มารดา ผู้ล่วงลับไปแล้ว ที่สอนให้เป็นคนอดทน และตั้งใจทำให้สำเร็จ ขอขอบคุณสามี และลูก ๆ รวมทั้งพี่น้อง ที่เป็นกำลังใจให้ทำงานเสร็จสิ้นด้วยดี และขอขอบคุณ คุณบุษกร อุตสาหกิจ หัวหน้าห้องสมุด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยตรวจเอกสารอ้างอิงท้ายบท ได้อย่างดียิ่ง

รองศาสตราจารย์ ดร.นันทนา อรุณฤกษ์

สารบัญ

บทที่ 1	ไบโอฟิล์มในช่องปาก (ORAL BIOFILM)	1
1.	แผ่นคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก (DENTAL PLAQUE)	1
2.	ความรู้ทั่วไปของไบโอฟิล์มในช่องปาก	2
3.	โครงสร้างของไบโอฟิล์ม	4
3.1	องค์ประกอบของไบโอฟิล์มในช่องปาก	4
3.2	VOIDS/WATER CHANNELS	4
3.3	องค์ประกอบและรูปร่างของกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ	5
3.4	เอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์	5
4.	การก่อตัวของไบโอฟิล์ม	7
4.1	การสร้าง ACQUIRED PELLICLE	7
4.2	การเริ่มต้นเข้าเกาะติดในระยะแรก (INITIAL ADHESION)	7
4.3	ระยะที่ไบโอฟิล์มเจริญเต็มที่ (MATURATION)	9
4.4	การกระจายตัว (DISPERSION) ของเซลล์แบคทีเรียภายในไบโอฟิล์ม	10
5.	ความหลากหลายทางสรีรวิทยา (PHYSIOLOGICAL HETEROGENEITY) ของไบโอฟิล์ม	12
6.	การเกาะติด (ATTACHMENT) ของแบคทีเรียภายในไบโอฟิล์ม	12
6.1	FIMBRIAE	12
6.2	เอนไซม์โปรตีเอส (PROTEASE) ชนิดหลั่งออกนอกเซลล์แบคทีเรีย	13
7.	คุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะ (ANTIBIOTIC RESISTANCE) ของไบโอฟิล์ม	13
8.	การถ่ายทอดยีน (GENE TRANSFER)	14
8.1	การจับคู่ถ่ายยีน (CONJUGATION)	14
8.2	การแปลงพันธุ์ (TRANSFORMATION)	15
8.3	การถ่ายโอนยีน (TRANSDUCTION)	15
9.	การติดต่อสื่อสารระหว่างชนิดของแบคทีเรียภายในไบโอฟิล์ม	16
9.1	กฎของการอยู่ร่วมกันหรือข้อตกลงระหว่างกัน (RULES OF ENGAGEMENT)	16
9.2	QUORUM SENSING หรือ CELL-CELL SIGNALING	18
9.3	โมเลกุลส่งสัญญาณ (SIGNALING MOLECULES) ภายในไบโอฟิล์ม	20
9.4	บทบาท AI-2 ในการพัฒนาไปสู่ชุมชนที่มีแบคทีเรียหลากหลายชนิด	25
10.	บทสรุป	28
	เอกสารอ้างอิง	29

บทที่ 2 ภาพรวมของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์

(OVERVIEW OF PERIODONTOPATHIC BACTERIA)	31
1. ORAL FLORA AND NORMAL PERIODONTIUM	32
2. โรคปริทันต์ (PERIODONTAL DISEASE)	34
3. BACTERIAL ETIOLOGY IN PERIODONTAL DISEASE	35
3.1 แบคทีเรียชนิด <i>P. gingivalis</i>	37
3.2 แบคทีเรียชนิด <i>A. actinomycetemcomitans</i>	37
3.3 แบคทีเรียชนิด <i>T. forsythia</i>	37
3.3.1 <i>T. forsythia</i> SURFACE GLYCOSYLATION	38
3.3.2 TANNERELLA'S SUGARY COAT	38
3.3.3 การจัดการกับภูมิคุ้มกัน (MANIPULATING IMMUNITY)	38
3.4 <i>T. denticola</i>	39
3.4.1 ปัจจัยความรุนแรงของ <i>T. denticola</i>	40
3.4.1.1 MAJOR OUTER SHEATH PROTEIN (Msp)	40
3.4.1.2 ORTHOLOG OF OLIGOPEPTIDE TRANSPORTER UNIT (OppA)	41
3.4.1.3 FACTOR H-LIKE PROTEIN-1 BINDING PROTEINS (FhbB)	41
3.4.1.4 DENTILLISIN	41
3.4.1.5 LEUCINE RICH REPEATS	42
3.4.1.6 IMMUNOSUPPRESSIVE FACTOR	42
3.4.1.7 LIPOOLIGOSACCHARIDE (LPS)	43
3.4.1.8 ความต้านทานต่อ DEFENSIN	43
3.4.1.9 CYSTALYSIN	43
3.4.1.10 การแทรกเข้าเนื้อเยื่อของเซลล์โฮสต์	44
3.4.1.11 CHEMOTAXIS	44
3.4.1.12 HEMIN-BINDING PROTEIN	44
3.5 บทบาทของ NEURAMINIDASE	45
3.5.1 บทบาทของ NEURAMINIDASE ในแบคทีเรีย "RED COMPLEX"	45
3.5.2 ผลของ NEURAMINIDASE ต่อภูมิคุ้มกันสืบทอดและภูมิคุ้มกันได้มา(หลังเกิด) ..	46
เอกสารอ้างอิง	47

บทที่ 3 วิถีชีวิตของ *P. gingivalis* ในไบโอฟิล์มและในเซลล์เหงือก

(DUAL LIFESTYLE OF <i>P. gingivalis</i> IN BIOFILM & GINGIVAL CELLS).....	49
1. วิถีชีวิตของ <i>P. gingivalis</i> ในไบโอฟิล์ม.....	50
2. <i>P. gingivalis</i> กับเชื้อเสริมความรุนแรง (ACCESSORY PATHOGEN) ในไบโอฟิล์ม.....	51
3. การเกิด CROSS-FEEDING ระหว่างชนิดแบคทีเรียภายในไบโอฟิล์ม.....	52
4. สารเมตาบอไลต์/การเกาะติดระหว่าง <i>S. gordonii</i> , <i>F. nucleatum</i> และ <i>P. gingivalis</i>	55
5. การเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์และการมีชีวิตอยู่ภายในเซลล์โฮสต์ของ <i>P. gingivalis</i>	56
5.1 การเข้าสู่เซลล์โฮสต์โดยกระบวนการ ENDOCYTOSIS.....	57
5.2 การเข้าสู่เซลล์โดยใช้ถุงเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (OUTER MEMBRANE VESICLES)	58
6. การออกจากเซลล์ปริทันต์ของ <i>P. gingivalis</i>	58
7. บทสรุป	61
เอกสารอ้างอิง.....	62

บทที่ 4 ปัจจัยความรุนแรงของ *P. gingivalis*

(VIRULENCE FACTORS OF <i>P. gingivalis</i>).....	63
1. <i>P. gingivalis</i> และความชุกของเชื้อ.....	63
2. ปัจจัยของความรุนแรงของ <i>P. gingivalis</i>	65
2.1 แคปซูล (CAPSULE).....	68
2.2 FIMBRIAE	70
2.3 LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS).....	72
2.4 เอนไซม์โปรตีเอส (PROTEASE).....	75
2.5 โปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (OUTER MEMBRANE PROTEIN, OMP).....	76
3. บทสรุป	77
เอกสารอ้างอิง.....	79

บทที่ 5 การปรับเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกันโฮสต์ของ *P. gingivalis*

(MANIPULATION OF HOST RESPONSE BY <i>P. gingivalis</i>).....	81
1. บทบาทของ TLRs กับพยาธิสภาพการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ.....	81
1.1 TLR (TOLL-LIKE RECEPTOR).....	81
1.2 TLRs กระตุ้นการผลิตไซโตไคน์	82
1.3 ตำแหน่ง TLRs ในเนื้อเยื่อปริทันต์	84
1.4 โรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังมีผลกระทบต่อกระตุ้นผ่าน TLR.....	84

2. บทบาทในการปรับเปลี่ยนกลไกการทำงานของเม็ดเลือดขาว.....	86
2.1 การควบคุมการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลโดยทำให้เกิด CHEMOKINE PARALYSIS	86
2.2 ทำลายนิวโทรฟิลเพื่อนำไปสู่ DYSBIOTIC INFLAMMATION.....	88
2.3 กลไกหลบหลีกภูมิคุ้มกันโดยอาศัยอยู่ในเซลล์มาโครฟาจ	90
2.4 กลไกหลบหลีกภูมิคุ้มกันโดยอาศัยอยู่ในเซลล์เดนไดรต์.....	93
3. บทบาทต่อชนิดของชุมชนแบคทีเรียภายในไบโอฟิล์ม.....	95
4. บทสรุป.....	96
เอกสารอ้างอิง	98

บทที่ 6 ปัจจัยความรุนแรงของ *A. actinomycetemcomitans*

(VIRULENCE FACTORS OF <i>P. gingivalis</i>)	101
1. ประวัติ.....	102
2. อนุกรมวิธาน (TAXONOMY).....	103
3. ซีโรไทป์	104
4. คุณสมบัติภายในไบโอฟิล์ม.....	104
5. ปัจจัยความรุนแรงของ <i>A. actinomycetemcomitans</i>	105
5.1 ปัจจัยที่ส่งเสริมการเข้าเกาะและคงอยู่ในช่องปาก.....	106
5.1.1 ADHESINS	106
5.1.2 FIMBRIAE.....	106
5.1.3 ถุงเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (OUTER MEMBRANE VESICLES).....	106
5.1.4 INVASIN.....	107
5.1.5 แบคทีริโอซิน (BACTERIOCIN).....	107
5.2 ปัจจัยที่แทรกแซงระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์.....	109
5.2.1 LEUKOTOXIN	109
5.2.1 LPS	109
5.2.3 CHEMOTACTIC INHIBITORS	110
5.2.4 CYTOLETHAL DISTENDING TOXIN (CDT)	110
5.2.5 IMMUNOSUPPRESSIVE FACTORS	111
5.2.6 Fc BINDING PROTEIN.....	111
5.3 ปัจจัยที่ทำลายเนื้อเยื่อโฮสต์.....	112
5.3.1 CYTOTOXIN	112
5.3.2 HEAT SHOCK PROTEIN (HSPs)	112

5.3.3 คอลลาจีเนส (COLLAGENASE)	112
5.3.4 BONE RESORPTION AGENTS.....	113
6. การกำจัดเชื้อเพื่อการรักษาโรคปริทันต์	114
7. การให้วัคซีน	114
8. บทสรุป.....	114
เอกสารอ้างอิง.....	115
 บทที่ 7 ปัจจัยความรุนแรงที่สำคัญในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ(ชนิด)ลุกลามของ	
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	117
1. โรคปริทันต์อักเสบ	117
2. <i>A. actinomycetemcomitans</i>	121
3. สารชีวพิษที่สำคัญของ <i>A. actinomycetemcomitans</i>	121
4. LEUKOTOXIN.....	122
4.1 กลุ่มแบคทีเรียที่ผลิต Leukotoxin	122
4.2 คุณลักษณะทั่วไปและพันธุกรรมของ LEUKOTOXIN.....	122
4.3 กลไกความรุนแรง	123
4.4 LEUKOTOXIN-INDUCED PRO-INFLAMMATORY CELL DEATH.....	124
5. <i>A. actinomycetemcomitans</i> ในระยะก่อนแสดงอาการทางคลินิก	
ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ(ชนิด)ลุกลาม.....	129
6. <i>A. actinomycetemcomitans</i> ภายในไบโอฟิล์มในร่องลึกปริทันต์.....	130
7. แนวทางการลดความรุนแรงในการเกิดโรค	131
8. บทสรุป	131
เอกสารอ้างอิง.....	133
 บทที่ 8 แบคทีเรียก่อโรคปริทันต์นำมาซึ่งการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ	
(PERIODONTAL PATHOGENS CONTRIBUTE TO THE PATHOGENESIS	
OF ARTEROSCLEROSIS).....	135
1. พยาธิกำเนิดของโรคมีความเกี่ยวข้องกับ 3 สาเหตุร่วมกัน	140
1.1 ความเข้มข้นของลิโปโปรตีนในซีรัม	140
1.2 สภาพให้ซึมผ่านได้ของเอนโดทีเลียม	140
1.3 การจับของลิโปโปรตีนในผนังชั้นในของหลอดเลือดแดง	142
2. การอธิบายเพิ่มเติม	144
เอกสารอ้างอิง.....	147

บทที่ 9 สมมุติฐานและแบบจำลองพยาธิกำเนิดของโรคปริทันต์

(HYPOTHESIS AND MODEL OF PERIODONTAL PATHOGENESIS).....	149
1. บทบาทของแบคทีเรียในโรคปริทันต์ L PERIODONTIUM	149
1.1 NON-SPECIFIC PLAQUE HYPOTHESIS	149
1.2 SPECIFIC PLAQUE HYPOTHESIS	150
1.3 MULTIPLE PATHOGEN HYPOTHESIS.....	150
2. แนวคิดของพยาธิกำเนิดของโรคปริทันต์อักเสบ	153
2.1 แบบจำลองเชิงเส้น (LINEAR MODEL).....	153
2.2 แบบจำลองแนวคิดแบบเซอร์คา (CIRCA)	154
2.3 แบบจำลองแบบวิถีวิกฤต (CRITICAL PATHWAY).....	155
2.4 แบบจำลองแบบไม่เชิงเส้น (NON-LINEAR MODEL).....	156
2.5 แบบจำลองเชิงลำดับหลายชั้น (MULTILEVEL HIERARCHAL MODEL).....	158
2.6 แบบจำลองระบบชีวภาพ (BIOLOGICAL SYSTEMS MODEL)	158
2.7 แบบจำลองระบบชีวภาพแบบใหม่ (NEW BIOLOGICAL SYSTEMS MODEL).....	161
3. บทสรุป.....	162
เอกสารอ้างอิง.....	163
INDEX	165
ดัชนี.....	171

บทที่ 1

ไบโอฟิล์มในช่องปาก

(ORAL BIOFILM)

ช่องปากเป็นอวัยวะที่เปรียบเสมือนหน้าต่างไปสู่การเกิดโรคในช่องปากและโรคทั่วกาย (systemic disease) มากมายและหลากหลาย เนื่องจากเป็นช่องทางในการเข้ามาของจุลินทรีย์มากมาย ทั้งชนิดที่ไม่ได้ก่อโรคและชนิดที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อ นอกจากนี้จุลินทรีย์ต่าง ๆ เหล่านี้ อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ ในช่องปากมนุษย์ประกอบด้วยเชื้อที่หลากหลายมากกว่า 600 ชนิด และในผู้ป่วยอาจพบมากกว่า 150 ชนิด สำหรับบนผิวฟันมนุษย์อาจมีแบคทีเรียจำนวน ล้าน ล้านตัว เกะกะกัน และประกอบเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์ (plaque) ดังนั้น สุขภาพช่องปากที่ดี ย่อมมีผลต่อคุณภาพชีวิตที่ดีตามมา เช่นกัน

1. แผ่นคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก (DENTAL PLAQUE)

โครงสร้างของแผ่นคราบจุลินทรีย์ ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีการจัดการในการอยู่ร่วมกัน เช่น ลำดับการเข้าเกาะของกลุ่มแบคทีเรีย และการมีความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกัน ในการศึกษาแผ่นคราบจุลินทรีย์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงให้เห็นถึง ความสัมพันธ์ของสัดส่วนของจุลินทรีย์ภายในแผ่นคราบจุลินทรีย์ แผ่นคราบจุลินทรีย์นี้ จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีโครงสร้างที่มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ทั้งทางสรีรวิทยา ทางเคมีวิทยา และประกอบด้วยกลไกมากมายที่จำเป็นเพื่อความอยู่รอด ภายในแผ่นคราบจุลินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีโครงสร้างที่แตกต่างกัน ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกันนี้ อาจแตกต่างจากปัจจัยด้านอายุ, สภาวะการเจริญ, อาหาร และบริเวณที่เข้าอยู่ภายในไบโอฟิล์ม (biofilm) ของแบคทีเรานั้น ๆ เป็นต้น

จากการศึกษาพบว่า ในการเกิดการเกาะกลุ่มร่วมกัน (coaggregation) ระหว่างแบคทีเรียด้วยกันภายในไบโอฟิล์มนั้น มีความจำเพาะในการเกาะกันสูงมาก และจากการที่สภาวะแวดล้อมบนฟันแต่ละซี่นั้นมีความแตกต่างกันมาก ความแตกต่างนี้ ส่วนหนึ่งมาจากปัจจัยจากความพยายามในการกำจัดแบคทีเรียออกจากช่องปาก ทั้งจากแรงจากการแปรงฟัน ความแตกต่างของปัจจัยทางชีวภาพและทางเคมี เช่น สภาวะความเป็นกรด-ด่างของอาหาร, การใช้น้ำยาบ้วนปาก เป็นต้น สิ่งเหล่านี้มีผลต่อ

การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในช่องปาก (oral microflora) ที่มีอยู่ก่อนด้วย และความแตกต่างเหล่านี้มีผลทำให้มีความแตกต่างในองค์ประกอบของชุมชนแบคทีเรีย โดยเฉพาะบริเวณที่เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน เช่น บริเวณร่องเหงือก, บริเวณผิวฟัน, บริเวณหลุมร่องฟัน ตัวอย่าง เช่น น้ำลายจะมีอิทธิพลต่อการก่อตัวเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์ในหลุมร่องฟันมากกว่าบริเวณอื่น แต่น้ำเหลืองเหงือกจะมีอิทธิพลต่อการก่อตัวเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์ในร่องเหงือก เป็นต้น ในบริเวณร่องเหงือกนี้จะมีภาวะ redox potential ที่ต่ำกว่าบริเวณอื่น จึงทำให้มีการเข้าเกาะ (colonize) ของแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบส์ (anaerobes) โดยเฉพาะกลุ่มที่สามารถย่อยโปรตีน เพื่อนำโปรตีนและไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ในน้ำเหลืองเหงือก มาใช้เป็นสารอาหารในการเจริญ จากการศึกษารูปร่างของแผ่นคราบจุลินทรีย์ ทั้งแผ่นคราบจุลินทรีย์จากฟันที่แท้จริง หรือจากการศึกษารูปร่างจากแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่ก่อตัวจากซีสเตรตที่กำหนดในช่องปากในช่วงเวลาหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope) ลักษณะรูปร่างจากการตัดขวางแผ่นคราบจุลินทรีย์ เพื่อดูชั้นของแผ่นคราบจุลินทรีย์ พบว่า แผ่นคราบจุลินทรีย์ ประกอบด้วยแบคทีเรียที่หลากหลายรูปร่างและหลากหลายชนิดเกาะอยู่ด้วยกัน ซึ่งปัจจุบันเรียกแผ่นคราบจุลินทรีย์นี้ว่า ไบโอฟิล์ม (biofilm)

2. ความรู้ทั่วไปของไบโอฟิล์มในช่องปาก

กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ประกอบกันเป็นไบโอฟิล์ม จะประกอบด้วยกลุ่มแบคทีเรียทั้งที่ฝังอยู่ภายใน และกลุ่มที่เกาะที่พื้นผิว หรือกลุ่มที่แทรกอยู่ระหว่างชั้นของแบคทีเรีย ไบโอฟิล์มที่เจริญเต็มที่ประกอบด้วยโคโลนีกลุ่มเล็ก ๆ ต่อกัน คล้ายหอคอย ซึ่งมีแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกันมีปฏิสัมพันธ์กัน และมีการแลกเปลี่ยนข่าวสารโดย โมเลกุลส่งสัญญาณ (signaling molecules) และเมตะบอไลต์ ไบโอฟิล์มเปรียบเสมือนเมืองที่มีขนาดเล็กมากหลาย ๆ เมืองอยู่ร่วมกัน ซึ่งก็คือ กลุ่มโคโลนีของแบคทีเรียที่อยู่กันหนาแน่น มีการซึมซับหรือชุ่มน้ำ ประกอบด้วย ช่องน้ำ ช่องว่าง ที่มีรูปแบบคล้ายถนน ตรอก ซอย แทรกอยู่ระหว่างตึกสูง ๆ

รากฐานของแผ่นคราบจุลินทรีย์ในช่องปากนั้น เริ่มจากแบคทีเรียกลุ่มที่เข้าเกาะเริ่มต้น หรือกลุ่มผู้บุกเบิกอาณานิคม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม streptococci, *Actinomyces* และอาจปะปนด้วยแบคทีเรียสกุลอื่นบ้าง ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มผู้บุกเบิกนี้จะมีบริเวณจับ (binding sites) สำหรับการเกิด coaggregation กับแบคทีเรียชนิดอื่น ในขณะที่ไบโอฟิล์มเจริญและมีความซับซ้อนมากขึ้น จะเกิดสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันเกิดขึ้นภายใน และจะเกิดช่องหรือโพรงเกิดขึ้นใหม่ เพื่อเป็นช่องทางสำหรับการเข้ามาเกาะของแบคทีเรียต่อมา ดังเช่น การเข้าเกาะเริ่มต้น เช่น streptococci และ *Actinomyces* จับกับ acquired pellicle ในน้ำลาย ซึ่งปกคลุมบนเคลือบฟัน และต่อมาจะเป็นการเข้าเกาะของ *Veillonella* กลายเป็นชุมชนไบโอฟิล์ม ที่ประกอบด้วยแบคทีเรียต่างชนิดมาอยู่ร่วมกัน

ในรายละเอียด ชนิดของเชื้อในการเข้าเกาะของชนิดแบคทีเรียในช่องปาก แบคทีเรียผู้บุกเบิกกลุ่มแรกเริ่มเกาะกับ acquired pellicle บนเคลือบฟัน และแบคทีเรียที่เข้าเกาะในต่อ ๆ มา ด้วยวิธี coaggregation ระหว่างแบคทีเรีย ปฏิกริยาการเข้าเกาะทั้งหมดนี้นำไปสู่การก่อตัวเป็นแผ่นคราบจุลินทรีย์ขึ้น แบคทีเรียผู้บุกเบิก เช่น *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* และ *Streptococcus sanguinis* เข้าเกาะกับที่รับต่าง ๆ ใน น้ำลาย (sialylated mucins, proline-rich protein, α -amylase, agglutinin และชิ้นส่วนของเซลล์แบคทีเรีย) ใน acquired pellicle ที่อยู่บนเคลือบฟัน แบคทีเรียที่เข้าเกาะต่อมาจะจับกับแบคทีเรียที่เข้าเกาะก่อนหน้า และมีการเข้าเกาะต่อ ๆ กัน

ตลอดเวลาของระยะการเจริญเป็นไบโอฟิล์มในช่องปาก แบคทีเรียที่อยู่ติดกัน จะสื่อสารหรือให้สัญญาณให้กับแบคทีเรียข้างเคียง และมีการตอบสนองกับเซลล์ข้างเคียงได้อย่างเหมาะสม การสื่อสารต่าง ๆ เหล่านี้ บางส่วนเกี่ยวข้องกับ โมเลกุลส่งสัญญาณ เพื่อให้มีการตอบสนองอย่างจำเพาะกับเซลล์ที่อยู่ข้างเคียง หรืออีกแง่หนึ่งก็คือ แบคทีเรียสื่อสารกัน เพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่ เพื่อทำให้น่าไปสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมภายในไบโอฟิล์ม ความเข้าใจในการปรับตัวของจุลินทรีย์เพื่อเข้าสู่สภาวะที่มีชุมชนที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ร่วมกันอย่างสมดุล เช่น ไบโอฟิล์มในช่องปาก จึงน่าจะมีกลไกบางอย่างควบคุมการอยู่ร่วมกันเกิดขึ้น

การเข้าเกาะกันโดยวิธี coaggregation นี้ เป็นการรวมตัวที่เกิดขึ้นระหว่างเซลล์แบคทีเรียต่างสกุลกัน เช่น *F. nucleatum* สามารถจับกับแบคทีเรียสกุลอื่น ๆ กับแบคทีเรียในช่องปากทุกสายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม การรวมตัวกันระหว่างแบคทีเรียต่างสกุลกับ *Fusobacterium* นี้ แสดงให้เห็นไม่มากนัก ในทางตรงกันข้าม เชื้อ streptococci มักแสดงให้เห็นถึงการเกาะรวมตัวกันภายในแบคทีเรียสกุลเดียวกัน (เช่น *S. gordonii* และ *S. oralis*) รวมทั้งการเข้าเกาะร่วมกันภายในแบคทีเรียชนิดเดียวกัน (เช่น *S. gordonii* DL1 และ *S. gordonii* 38) แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ แสดงความจำเพาะในการเข้าเกาะกัน เช่น streptococci บางชนิดมีความสามารถ coaggregate กับ *Veillonella* spp. บางชนิด ในขณะที่ streptococci อื่น ๆ ไม่สามารถ coaggregate กับ *Veillonella* ชนิดดังกล่าวได้ แต่ทำ coaggregate กับ *Veillonella* อีกชนิดได้

3. โครงสร้างของไบโอฟิล์ม

สภาพแวดล้อมของไบโอฟิล์ม เป็นสภาวะที่แตกต่างจากการเจริญของแบคทีเรียที่ลอยอยู่ในน้ำที่เรียกว่า planktonic state โครงสร้างและคุณสมบัติของไบโอฟิล์ม มีดังต่อไปนี้

3.1 องค์ประกอบของไบโอฟิล์มในช่องปาก

ไบโอฟิล์มประกอบด้วยกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ (microcolonies) ของแบคทีเรีย (ร้อยละ 15-20 โดยปริมาตร) กระจายอยู่แบบ non-random อยู่ในเมทริกซ์ (matrix) หรือ glycocalyx (ร้อยละ 75-80 โดยปริมาตร) [1] กลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ นี้ จะเริ่มจากแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่มย่อย (cluster) และเริ่มรวมกันเป็นกลุ่มที่ใหญ่ขึ้น และสร้างเป็น sessile ที่มีฐานติดกับเคลือบฟัน (enamel) ต่อมาโคโลนีจะมีขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างคล้ายเห็ด (mushroom-shaped colony) ในช่วงเริ่มต้นโคโลนีเล็ก ๆ ของแบคทีเรียกลุ่มผู้บุกเบิก (pioneer bacteria) หรือกลุ่มเริ่มต้น จะอยู่กันเป็นชุมชนที่อยู่กันอย่างอิสระในสภาพแวดล้อมที่เจริญหรือตั้งถิ่นฐานอยู่ ต่อมาจะเริ่มสร้างเป็นชั้นจุลินทรีย์ที่สามารถมองเห็นได้ เนื่องจากการเจริญเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของกลุ่มจุลินทรีย์พร้อมกับการผลิตสารพอลิเมอร์ออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของไบโอฟิล์ม ในฐานด้านล่างของชั้นไบโอฟิล์มโดยส่วนใหญ่เป็นชั้นที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่กันอย่างหนาแน่น โดยจับอยู่ด้วยกันภายในเมทริกซ์ที่มีพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide matrix) รวมทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ชั้นไบโอฟิล์มที่สร้างสำเร็จ จะเป็นชั้นไบโอฟิล์มที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ ซึ่งมักจะมีพื้นผิวที่ขรุขระ, ไม่สม่ำเสมอ และอาจจะแผ่ขยายกระจายต่อไปสู่บริเวณโดยรอบ ๆ ต่อไป สำหรับชั้นไบโอฟิล์มที่อยู่ตรงรอยต่อหรือติดอยู่กับของเหลวอาจมีชั้นด้านในที่เกาะกันค่อนข้างแน่นจนอยู่ในสภาวะที่คงที่ (stationary) และชั้นด้านนอกถัดไปเป็นชั้นของเหลวที่มีการเคลื่อนไหวได้

3.2 VOIDS/WATER CHANNELS

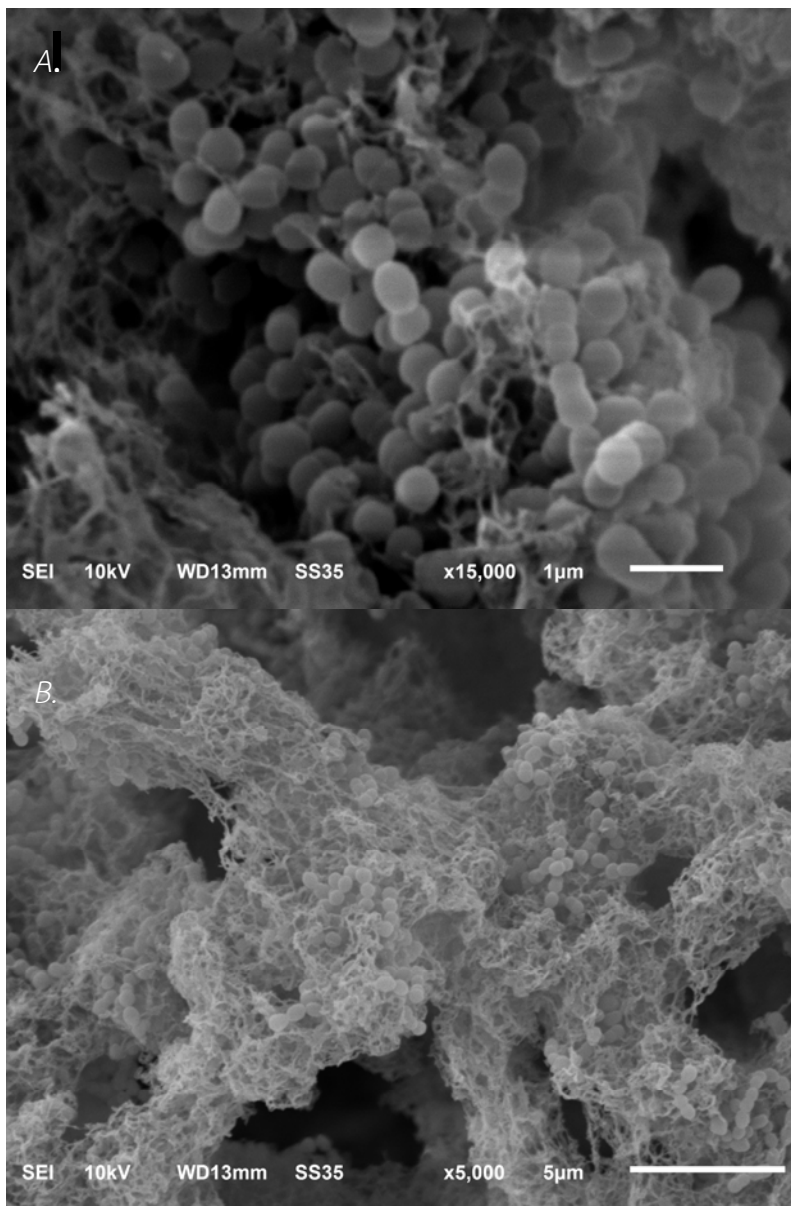
ไบโอฟิล์มประกอบด้วยช่องว่าง (voids channels) และช่องน้ำ (water channels) แทรกอยู่ระหว่างโคโลนีเล็ก ๆ ของจุลินทรีย์ โดยช่องน้ำจะทำให้มีการเข้าออกของสารอาหารและอื่น ๆ แทรกผ่านเข้ามาในไบโอฟิล์ม ทำให้มีระบบการไหลเวียนที่ดี บริเวณ sessile ที่ติดฐานของไบโอฟิล์มจะได้รับสารอาหารจากการซึมหรือแพร่ผ่านของสารอาหารทางช่องน้ำมากกว่าที่จะได้รับสารอาหารจากเมทริกซ์

3.3 องค์ประกอบและรูปร่างของกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ

แต่ละกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ เป็นชุมชนแบคทีเรียขนาดเล็กที่อยู่กันอย่างเป็นอิสระ ประกอบด้วยแบคทีเรียอยู่ร่วมกันประมาณ 1000 เซลล์ขึ้นไป กลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ เหล่านี้ มีความแตกต่างกันในส่วนประกอบของชนิดแบคทีเรีย แบคทีเรียที่อยู่ภายในใจกลางกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ เหล่านี้ อาจเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในขณะที่แบคทีเรียที่ขอบนอกตรงจุดที่สัมผัสกับของเหลว นั้น อาจเจริญได้ในสภาวะที่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นโครงสร้างของไบโอฟิล์มจึงมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงกว้างของการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมภายในบริเวณที่จะก่อตัวเป็นไบโอฟิล์ม โดยสิ่งแวดล้อมที่มีผลกระทบเป็นสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อความมีชีวิต หรือมีผลต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแต่ละชนิด ได้แก่ ความแตกต่างของ pH, ความแตกต่างของปริมาณอาหาร และความแตกต่างของปริมาณออกซิเจน นอกจากนี้กลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ ที่เกิดขึ้น ยังมีรูปร่างที่แตกต่างกันไป อาจเป็นผลจากการกระทำของแรงเฉือน (shear forces) ที่เกิดขึ้นจากแรงจากการไหลของของเหลวเหนือไบโอฟิล์ม และในสภาวะที่มีแรงเฉือนน้อย จะมีผลให้สามารถมีการสร้างเป็นโคโลนีที่สูงขึ้นไป ทำให้เกิดรูปร่างคล้ายหอคอยหรือคล้ายกับเห็ดได้ ในขณะที่ในสภาวะที่มีแรงเฉือนมาก จะมีผลทำให้โคโลนีเหล่านี้ยืดยาวและกวัดแกว่งหรือสลายไปมาอย่างรวดเร็ว

3.4 เอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (EXOPOLYSACCHARIDES, EPS) - โครงสร้างหลักของไบโอฟิล์ม

EPS เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่หลั่งออกนอกเซลล์ เป็นผลผลิตจากแบคทีเรียที่ก่อตัวในไบโอฟิล์ม EPS จัดเป็นองค์ประกอบหลักของไบโอฟิล์มที่มีมากถึงร้อยละ 50-95 ของน้ำหนักแห้ง เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาหรือคงความสมบูรณ์ของไบโอฟิล์ม และยังป้องกันภาวะการทำให้แห้งและการโจมตีจากสารพิษต่าง ๆ นอกจากนี้ พอลิแซ็กคาไรด์ยังจับกับสารอาหารที่จำเป็น เช่น สารที่มีประจุบวกเพื่อสร้างสิ่งแวดล้อมในไบโอฟิล์มให้สมบูรณ์หรือเหมาะสมสำหรับให้จุลินทรีย์ที่จำเพาะเข้ามาเจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น ดังนั้นเมทริกซ์ที่อุดมไปด้วย EPS เปรียบเสมือนบัพเพอร์และช่วยเก็บรักษาเอนไซม์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (รวมทั้งซับสเตรตของเอนไซม์) อีกทั้งยังส่งเสริมให้เซลล์แบคทีเรียใช้เอนไซม์หลายชนิดให้เกิดประโยชน์อีกด้วย ลักษณะที่สำคัญของไบโอฟิล์มในช่องปากก็คือ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสังเคราะห์และย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ที่หลั่งออกมานอกเซลล์แบคทีเรียนี้ได้ โดยเฉพาะในช่องปาก ตัวอย่างแบคทีเรียที่สำคัญ ได้แก่ *Streptococcus mutans* ที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ และแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจน จากการเพาะเลี้ยง *S. mutans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Todd Hewitt medium ที่มีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 ในสภาวะแอนแอโรบัส บนแผ่นสไลด์ในห้องปฏิบัติการ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (scanning electron microscope) (รูปที่ 1.1) [2]



รูปที่ 1.1 แสดงภาพไบโอฟิล์มที่ก่อตัวจาก *S. mutans* ATCC 27175 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (A. X15000, B X5000) ไบโอฟิล์มนี้ก่อตัวจากการเพาะเลี้ยง *S. mutans* ใน Todd Hewitt medium ที่มีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 ในสภาวะแอนแอโรบส์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แสดงเซลล์ *S. mutans* รูปร่างกลมยัดเกาะอยู่ด้วยกันกับตาข่ายของ EPS ที่เชื้อผลิตเอง (ที่มา: Phadungkun N, Poomputsar T, Utta C, Chankoom P, Aroonrerk N: Study the effects of original yogurts on *S. mutans* adhesion of *in vitro* bioflim model. Bachelor's Thesis, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 2017;p.10)

4. การก่อตัวของไบโอฟิล์ม

การก่อตัวของไบโอฟิล์ม ประกอบด้วย 4 ระยะ (รูปที่ 1.2) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 การสร้าง ACQUIRED PELLICLE

ไบโอฟิล์มในช่องปากมีคุณลักษณะจำเพาะที่แตกต่างจากไบโอฟิล์มจากแหล่งอื่น ๆ ไบโอฟิล์มในช่องปากต้องการไกลโคโปรตีนในน้ำลาย เพื่อให้แบคทีเรียเริ่มเข้าเกาะในระยะแรกของการก่อตัวของไบโอฟิล์ม เป็นขั้นตอนการยึดเกาะของ acquired pellicle กับผิวฟันที่สะอาด acquired pellicle นี้มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ ประกอบด้วยโปรตีนที่มีแหล่งมาจากไกลโคโปรตีนในน้ำลาย กลไกการสร้าง acquired pellicle อยู่บนหลักการของ “Gibbs law of free enthalpy” เอนทัลปีเป็นพลังงานความร้อนที่ผ่านเข้าหรือออกจากระบบ การสร้าง acquired pellicle นี้จะมีการปล่อยพลังงานความร้อนออกมาหลังจากที่ไกลโคโปรตีนเข้าเกาะกับผิวฟัน นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยามากมายที่มีส่วนร่วมในการสร้าง acquired pellicle ได้แก่ ปฏิกิริยาระหว่างไกลโคโปรตีนหลายชนิดกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในน้ำลาย และกับผิวฟัน แรงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ แรงที่กระทำต่อกันในระยะไกล 50-100 นาโนเมตร ระยะกลาง 10-50 นาโนเมตร และระยะที่ < 5 นาโนเมตร แรงที่กระทำต่อกันในระยะไกล ได้แก่ ปฏิกิริยาคุลอมบ์ (coulomb interaction), แรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) และแรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole interaction) สำหรับแรงที่กระทำต่อกันในระยะกลาง ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ (covalent bond) แรงดึงดูดทางไฟฟ้า (electrostatic interaction) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) พันธะไอออนิก (ionic bond) และปฏิกิริยาลิวอิส กรด-เบส (Lewis acid-base interaction) ด้วยแรงต่าง ๆ เหล่านี้ โปรตีนจะถูกดูดซับและมีการจัดเรียงตัวใหม่ มีการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง (conformational changes) และมีผลทำให้เกิดเป็น pellicle ใหม่ขึ้นมา เพื่อพร้อมสำหรับการเข้าเกาะของแบคทีเรียกลุ่มผู้บุกเบิกที่จะก่อตัวเป็นไบโอฟิล์ม

4.2 การเริ่มต้นเข้าเกาะติดในระยะแรก (INITIAL ADHESION)

การเข้าเกาะของแบคทีเรียกับ acquired pellicle ซึ่งเป็นระยะของการก่อตัวไบโอฟิล์ม แบคทีเรียที่ลอยลอยอยู่ในน้ำลายหรือ planktonic state จะจับกับโปรตีนใน acquired pellicle อย่างจำเพาะ เช่น เอนไซม์ α -amylase และไกลโคโปรตีน/โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน proline ปริมาณมาก ๆ (proline-rich glycoprotein) อย่างไรก็ตามระยะนี้ผันกลับได้ และแบคทีเรียผู้บุกกรุกกลุ่มแรกนี้ สามารถหลุดออกจาก pellicle ได้ ในการเข้าเกาะเริ่มแรกเป็นการเข้าเกาะโดยใช้แรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตย์หรือการสัมผัสทางกายภาพ แต่ต่อมา แรงทางเคมีเริ่มมีอิทธิพลเหนือกว่า ในขณะที่แบคทีเรียผู้บุกเบิกกลุ่มแรกเข้ามาเกาะกับ acquired pellicle บนเคลือบฟันแล้ว แบคทีเรียเหล่านี้จะ