ABILITY OF ENTEROCOCCUS FAECALIS FROM ENDODONTIC-PERIODONTAL LESIONS ON CELL ADHESION AND INTERNALIZATION IN ORAL KERATINOCYTE CELLS

Asma CHEAAUBONG[1*], Nuntiya PAHUMUNTO[2], Kewalin THAMMASITBOON[1] and Rawee TEANPAISAN[3]

1 Department of Conservative, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Thailand; 6510820025@email.psu.ac.th (Corresponding Author)

2 Department of Oral Diagnostic Sciences, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Thailand

3 Medical Science Research and Innovation Institute, Prince of Songkla University, Thailand

ARTICLE HISTORY

Received: 16 August 2024 **Revised:** 30 August 2024 **Published:** 13 September 2024

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the abilities of *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) strains isolated from endodontic–periodontal lesions presenting the same genotypes (*Ef.S*) and different genotypes (*Ef.D*) and showing hemolysis and non–hemolysis strains on adherence in oral keratinocyte cells. Microplate-based cell invasion assay was used to assess the adherence and invasion capabilities of *E. faecalis* strains. Results showed that *Ef.D* strains exhibited adherence and internalization ability higher than *Ef.S* strains but it showed no significant difference. Hemolytic strains (67.85±2.0 and 63.92±1. 7% for adhesion and internalization, respectively) revealed higher adhesion and internalization capabilities compared to non-hemolytic strains (63.31±1.3 and 42.40±1.5% for adhesion and internalization, respectively). Regarding externalization, non-hemolytic strains (21.6±4.7%) showed higher than hemolytic strains (3.9±0.9%). Our study concluded that hemolytic *E. faecalis* strains may be a crucial factor contributing to the more severe pathogenicity of these strains, warranting further investigation.

Keywords: Enterococcus Faecalis, Oral Keratinocyte Cells, Adherence, Cell Internalization, Hemolytic

CITATION INFORMATION: Cheaaubong, A., Pahumunto, N., Thammasitboon, K., & Teanpaisan, R. (2024). Ability of Enterococcus Faecalis from Endodontic-Periodontal Lesions on Cell Adhesion and Internalization in Oral Keratinocyte Cells. *Procedia of Multidisciplinary Research, 2*(9), 7

ความสามารถของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ในช่องปาก

อัซมา เจ๊ะอุบง[1*], นันทิยา พาหุมันโต[2], เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์[1] และ รวี เถียรไพศาล[3]

1 สาขาทันตกรรมอนุรักษ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 6510820025@psu.ac.th (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)

2 สาขาวิชาวิทยาการวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3 สถาบันวิจัยและนวัตกรรมทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลาครินทร์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อ *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ที่แยกได้จากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน (*Ef.S)* และต่างกัน (*Ef.D*) รวมทั้งสายพันธุ์ที่มี (hemolysis)และไม่มีความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง(non-hemolysis) ต่อความสามารถในการยึดเกาะและเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ในช่องปาก ด้วยวิธี microplated-based cell invasion assay จากผลการศึกษาพบว่า เชื้อ *Ef.D* มีความสามารถในการเกาะติดเซลล์และเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์สูงกว่า *Ef.S* แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic มีแนวโน้มเกาะติดเซลล์โดยรวมและเข้าสู่เซลล์ (67.85 ± 2.0 และ 63.92±1.7% ตามลำดับ) ได้สูงกว่ากลุ่ม non-hemolytic (63.31±1.3 และ 42.40±1.5 %ตามลำดับ) และพบว่า เชื้อกลุ่ม non- hemolyticสามารถเกาะติดเซลล์ภายนอกได้มากกว่ากลุ่ม non-hemolytic (21.63±4.7และ3.93±0.9 % ตามลำดับ) ดังนั้นการที่เชื้อ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic นั้นมีความสามารถในการยึดเกาะและเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่า อาจเป็นคุณสมบัติสำคัญที่ส่งผลต่อการก่อโรคที่รุนแรงของเชื้อในกลุ่มนี้ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ: เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส, เซลล์เคอราติโนไซต์, การยึดเกาะ, การเข้าสู่เซลล์, การสลายเม็ดเลือดแดง

ข้อมูลการอ้างอิง: อัซมา เจ๊ะอุบง, นันทิยา พาหุมันโต, เกวลิน ธรรมสิทธิ์บูรณ์ และ รวี เถียรไพศาล. (2567). ความสามารถของเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ในช่องปาก. *Procedia of Multidisciplinary Research, 2*(9), 7

บทนำ

ความสัมพันธ์ระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์นั้นเกิดจากการที่เนื้อเยื่อในมีทางติดต่อกับอวัยวะปริทันต์ได้หลายทาง ดังนั้นเมื่อเกิดการอักเสบติดเชื้อที่อวัยวะหนึ่งจะส่งผลให้เชื้อโรคและสารพิษสามารถผ่านช่องทางติดต่อเหล่านี้ไปยังอีกอวัยวะหนึ่งได้ ทำให้เกิดรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์ (combined endodontic-periodontal lesions) ซึ่งสามารถพบเนื้อเยื่อในตาย มีร่องลึกปริทันต์ มีการสูญเสียการยึดติดของเนื้อเยื่อปริทันต์และแสดงให้เห็นการละลายของกระดูกในภาพถ่ายรังสีได้

กลุ่มเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์มีความคล้ายคลึงกัน โดยพบว่ากลุ่มเชื้อเอนเทอโรคอคคัส (*Enterococcus)* นั้นมีบทบาทสำคัญ โดยเฉพาะเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส (*Enterococcus faecalis* หรือ *E. faecalis*) ซึ่งจากการศึกษาของพรชนก ศรีสังข์และคณะ ที่รายงานความชุกของเชื้อ *E. faecalis* ในรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ โดยแยกเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสจากคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์ของฟันที่มีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ พบว่า มีเชื้อ *E. faecalis* ทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์จำนวนหนึ่งที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์ (*Ef.S*) และอีกจำนวนหนึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมในคลองรากฟันที่ต่างกัน (*Ef.D*) อีกด้วย

ภรอิชฌน์ สุขกระจ่าง (2565) และคณะ ได้ทำการศึกษาตรวจหายีนก่อโรค (virulence genes) และฟีโนไทป์(phenotypes) ของเชื้อ *E. faecalis* ทั้งสองกลุ่มพบว่า มีความแตกต่างกัน โดยเชื้อ *Ef.S* นั้นมีปัจจัยในการก่อโรคที่สูงกว่า *Ef.D* แต่ทั้งนี้ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดเนื่องจากมีเชื้อ *E. faecalis* บางสายพันธุ์ที่ไม่มียีนแต่มีการแสดงฟีโนไทป์ดังกล่าวเช่นกัน และยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบถึงการแสดงออกเหล่านั้น

นอกจากนี้ พบว่า *E. faecalis* มีปัจจัยการก่อโรค (virulence factor) หลายชนิดที่สามารถก่อให้เกิดพยาธิสภาพได้ โดยแบคทีเรียมีความสามารถในการยึดเกาะกับโฮสต์เซลล์ (adherence) และสามารถรุกราน (internalization)เข้าสู่ non phagocyte cells ซึ่งนับเป็นกระบวนการสำคัญที่ส่งผลให้เกิดการก่อโรคต่อโฮสต์เซลล์ โดยกระบวนการก่อโรคในระยะแรกจะมีการรวมกลุ่มกันที่บริเวณเยื่อบุผิวของโฮสต์ และตามมาด้วยการรุกรานของแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์ เนื่องจากกระบวนเหล่านี้เอื้อให้เชื้อแบคทีเรียสามารถหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกันจากเซลล์โฮสต์ และยังสามารถต้านยารักษาหรือสารเคมีต่างๆได้

โดย Cytolysin (*cylA*) หรือ hemolysin เป็นปัจจัยก่อโรคสำคัญที่ทำให้เกิดการย่อยสลายของเม็ดเลือดแดงและยังสามารถทำให้เกิดการแตกของ PMN และ macrophage ทำให้ขบวนการ phagocytosis ลดลงอีกด้วยส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์โฮสต์ จากการศึกษาก่อนหน้า พบว่า *E. faecalis* สายพันธุ์ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้จะมีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่สลายเม็ดเลือดแดง

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของ *E.faecalis* ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมหมือนกัน (*Ef.S*) และต่างกัน (*Ef.D*) ทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์และความสามารถของเชื้อ *E. faecalis* ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolytic *E.faecalis*) ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ ซึ่งกระบวนการนี้อาจเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลทำให้ *E. faecalis* สามารถก่อโรคได้ในกรณีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ และสามารถนำความรู้ความเข้าใจจากกระบวนการก่อโรคของ *E. faecalis* ในกรณีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบมาประยุกต์ใช้และพัฒนากระบวนการรักษาให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

การทบทวนวรรณกรรม

รอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ

จากการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์และโรคเนื้อเยื่อในของ Simring และ Goldberg ในปี 1964 ทำให้ทราบถึงรอยโรคร่วมระหว่างเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ (endodontic-periodontic lesion) ซึ่งเกิดจากการที่

ฟันมีเนื้อเยื่อในที่มีช่องทางติดต่อกับอวัยวะปริทันต์ โดยสามารถจำแนกได้เป็นรอยโรคที่อาจมีสาเหตุเกิดจากโรคเนื้อเยื่อในก่อน หรือเกิดจากโรคของปริทันต์ก่อน หรือมีจุดกำเนิดทั้งจากรอยโรคจากเนื้อเยื่อในและจากรอยโรคปริทันต์ที่แยกกันแต่พัฒนาการเกิดโรคขึ้นพร้อม ๆกัน ซึ่งอวัยวะปริทันต์และเนื้อเยื่อในมีช่องติดต่อถึงกันได้ ดังนั้นเมื่อเกิดการอักเสบติดเชื้อที่อวัยวะหนึ่งเชื้อโรคและสารพิษสามารถผ่านช่องทางติดต่อเหล่านี้ไปยังอีกอวัยวะหนึ่งได้ ทำให้เกิด endodontic-periodontal lesions ขึ้น

มีหลายการศึกษาก่อนหน้าที่สนับสนุนว่าโรคปริทันต์อักเสบนั้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อในฟันได้ เนื่องสารพิษของแบคทีเรียสามารถผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อในฟันได้ตามช่องทางติดต่อต่าง ๆ โดยเฉพาะกรณีที่โรคปริทันต์อักเสบลุกลามมากถึงรูปลายรากฟัน แต่อย่างไรก็ตามมีการวิจัยที่ศึกษาที่กล่าวว่าโรคปริทันต์อักเสบไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อใน เช่นในการศึกษาของ Langeland et al. (1974) ที่ศึกษาในฟันที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบและมีแบคทีเรียบริเวณรูเปิดของคลองรากฟันเล็ก หรือคลองรากฟันหลัก พบว่าไม่มีการตายของเนื้อเยื่อในฟันทั้งหมด

จุลชีพในรอยโรคปริทันต์และรอยโรคเนื้อเยื่อในฟัน

โรคของเนื้อเยื่อในฟันและโรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคติดเชื้อ ซึ่งก่อนหน้านี้มีรายงานว่าลักษณะของเชื้อโรคระหว่างการติดเชื้อในคลองรากฟันและบริเวณร่องลึกปริทันต์ที่ติดต่อกันนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และยังมีรายงานว่าเชื้อโรคในคลองรากฟันมีลักษณะเป็นเชื้อจุลชีพหลายชนิดที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนคล้ายคลึงกับการเรียงตัวที่พบในแผ่นคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก (subgingival plaque) สำหรับในระบบคลองรากฟันนั้น พบว่าเชื้อโรคในคลองรากฟันมีความซับซ้อนไม่เท่ากับเชื้อโรคที่พบในร่องลึกปริทันต์ที่ลึกมาก โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์นั้นมีความสัมพันธ์กับเชื้อที่ทำให้เกิดโรคของเนื้อเยื่อในฟัน ซึ่งสายพันธุ์ที่พบว่าก่อโรคทั้งสอง ได้แก่ ฟิวโซแบคทีเรียม *(Fusobacterium)* พรีโวเทลลา *(Provetella)* พอร์ไฟโรโมแนส*(Porphyromonas)* เปปโตสเตปโตคอคคัส *(Peptostreptococcus)* และสไปโรคีท *(Spirochetes)* เป็นต้น หากแต่เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์นั้นจะมีความซับซ้อนในทางนิเวศวิทยามากกว่า และมีจำนวนสายพันธุ์ก่อโรคมากกว่าการติดเชื้อภายในคลองรากฟัน สามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภท ตามระยะเวลาที่เชื้อจุลินทรีย์เข้ามาในคลองรากฟัน คือ 1) การติดเชื้อปฐมภูมิ (primary infection) เกิดจากจุลินทรีย์ที่บุกรุกเข้ามาตั้งรกรากในเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว 2) การติดเชื้อซ้ำของคลองรากฟันที่ได้กำจัดเชื้อไปแล้ว เกิดจากจุลินทรีย์ที่ไม่ปรากฏในการติดเชื้อปฐมภูมิ แต่เข้าสู่คลองรากฟันภายหลังการรักษา และ 3) การคงอยู่ของเชื้อภายหลังการรักษา เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเดียวกับการติดเชื้อปฐมภูมิหรือเชื้อที่เข้าสู่คลองรากฟันภายหลังการรักษาซึ่งดื้อต่อกระบวนการฆ่าเชื้อ และสามารถทนต่อภาวะการขาดแคลนอาหารในคลองรากฟันที่อุดแล้วได้

โดยพบว่า จุลินทรีย์ที่พบได้บ่อยในการติดเชื้อปฐมภูมินั้น ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) สามารถพบได้ทั้งแกรมลบ (gram-negative) และแกรมบวก (gram-positive) การศึกษาแบคทีเรียในการติดเชื้อปฐมภูมินั้นมีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา เช่น *Fusobacterium nucleatum, Treponema denticola, Porphyromonas endodontalis, Streptococcus spp.*เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อ เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส(*Enterococcus faecalis* หรือ *E. faecalis)* ได้เช่นกัน จากการศึกษาของ พรชนก ศรีสังข์ และคณะ (2565) ที่ทำการศึกษาความชุกและปริมาณเชื้อ *E. faecalis, F. nucleatum* และ *P. gingivalis* โดยวิธี real-time PCR โดยทำการเก็บเชื้อจากร่องลึกปริทันต์และคลองรากฟันของผู้ป่วย 21 ราย ที่มีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์ ผลการศึกษาพบความชุกของเชื้อ *E. faecalis, F. nucleatum* และ *P. gingivalis* ในคลองรากฟัน ร้อยละ 90.48 ร้อยละ100 และร้อยละ 33.33 ตามลำดับ และในร่องลึกปริทันต์ ร้อยละ 100 ร้อยละ 100 และร้อยละ 71.43 ตามลำดับ

เชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส *(E. faecalis)*

เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ชนิดแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ถึง 1 ไมโครเมตร สายพันธุ์ส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) ไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (non-hemolytic) และสามารถทนต่อสภาวะการขาดอาหารได้นาน จากการศึกษาของ Sherman และคณะ ในปี 1937 พบว่า เชื้อ *E. faecalis* นั้นสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 10 องศา

เซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส ค่า pH 9.6 และสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที ซึ่งการติดเชื้อในคลองรากฟันแบบปฐมภูมิสามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ร้อยละ 4 ถึง 89 โดยพบในฟันที่มีรอยโรครอบปลายรากอย่างเรื้อรังและไม่มีอาการมากกว่าฟันที่มีเนื้อยื่อรอบปลายรากฟันอักเสบเฉียบพลันแบบมีหนอง และพบได้บ่อยที่สุดในคลองรากที่มีการติดเชื้อคงอยู่

อย่างไรก็ตาม มีการศึกษารายงานว่าเชื้อ *E. faecalis* นั้นมีความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบเช่นกัน แต่การศึกษาที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *E. faecalis* กับโรคปริทันต์อักเสบนั้นยังมีไม่มาก จากการศึกษาของ Rovia และคณะ ที่ได้ศึกษาเชื้อโดยใช้วิธี PCR จากตำแหน่งร่องลึกปริทันต์และคลองรากฟันของฟันที่มีรอยโรคร่วมระหว่างโรคปริทันต์และเนื้อเยื่อในพบว่า ความชุกของ *E. faecalis* ในคลองรากฟันมีค่าร้อยละ 30 และความชุกของ *E. faecalis* ในร่องลึกปริทันต์มีค่าร้อยละ 10 นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาที่สนับสนุนว่าเชื้อเชื้อ *E. faecalis* มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อการอักเสบของเนื้อเยื่อปริทันต์และการทำลายเนื้อเยื่อ ทำให้สามารถส่งผลต่อความรุนแรงในการเกิดโรคปริทันต์ได้

ความสามารถในการรุกรานเข้าสู่เซลล์

แบคทีเรียมีความสามารถในการยึดเกาะกับโฮสต์เซลล์ (adherence) และสามารถรุกราน (internalization) เข้าสู่ non phagocyte cells ซึ่งนับเป็นกระบวนการสำคัญที่ส่งผลให้เกิดการก่อโรคต่อโฮสต์เซลล์ โดยกระบวนการก่อโรคในระยะแรกจะมีการรวมกลุ่มกันที่บริเวณเยื่อบุผิวของโฮสต์ และตามมาด้วยการรุกรานของแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์ (internalization) เนื่องจากการะบวนเหล่านี้เอื้อเชื้อแบคทีเรียสามารถหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกันจากเซลล์โฮสต์ได้ และยังสามารถต้านยารักษาหรือสารเคมีต่างๆได้

โดยเชื้อ *E. faecalis* มีบทบาทในการก่อโรคได้ในหลายส่วนของร่างกาย เช่นสามารถรุกรานได้ในส่วนของทางเดินปัสสาวะ (urinary tract) จากการมีแผลติดเชื้อและสามารถรวมกลุ่มกันได้ในบริเวณเนื้อเยื่อหัวใจ ก่อให้เกิดภาวะเยื่อบุหัวใจอักเสบ(bacterial endocarditis) ได้ ซึ่งความสามารถในการยึดเกาะและเข้าสู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียมักเกี่ยวข้องกับปัจจัยที่ก่อความรุนแรงหลายชนิดเช่น aggregation substance (*AS*), gelatinase (*Gel*), cytolysin (*Cyl*), enterococcal surface protein (*Esp*) เป็นต้น

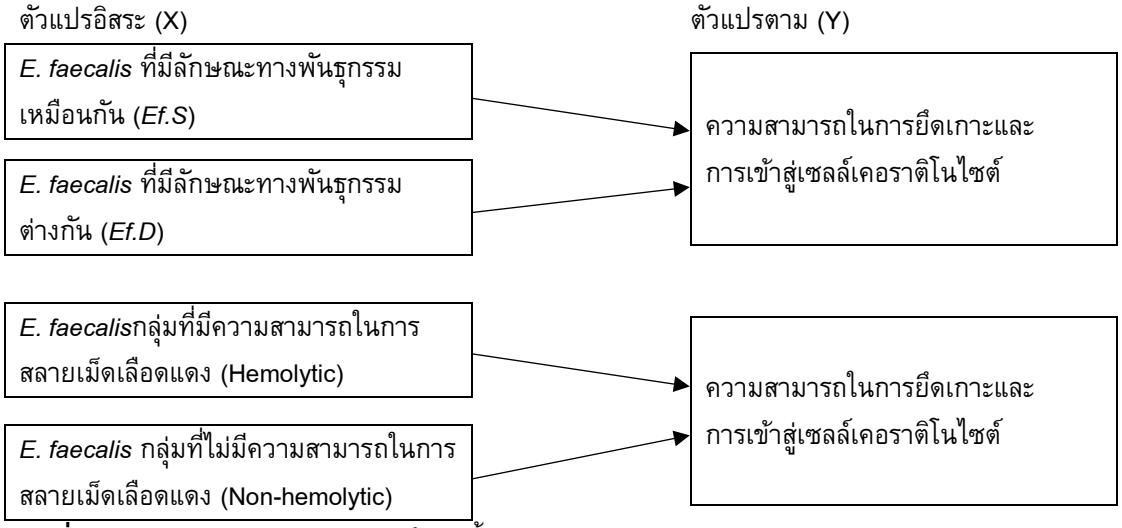
จากการศึกษาพบว่า มีความสัมพันธ์กับยีนต่างๆ ได้แก่ ยีนที่สงเสริมการเกาะติดกับเซลล์ของโฮสต์ ได้แก่ extracellular surface protein encoding gene (*Esp*) และ adhesion of collagen (*Ace*) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโปรตีนผิวเซลล์ของแบคทีเรีย แกรมบวกและสามารถทำหน้าที่เป็น collagen adhesin ยีนที่เกี่ยวของกับการเกาะกลุ่ม เช่น asa/asa373 (aggregation substances) และยีนที่เกี่ยวข้องกับ adherence factor เช่น *efaA* (antigen endocarditis) ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับ adhesins ที่พบในหลายสายพันธุ์ของ streptococcal นอกจากนี้ยังพบว่ามียีนที่เกี่ยวของกับการทำลายเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน (cytolysinA, *cylA*) และยีนที่เกี่ยวข้องกับการลดประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์แล้วมีผลทำให้เกิดการติดเชื้อได้ดีขึ้น (gelatinaseE, *gelE*)

สมมติฐานงานวิจัย

1) ความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ของ *Ef.S* และ *Ef.D* ไม่มีความแตกต่างกัน

2) ความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เซลล์เคอราติโนไซต์ของ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic และ non-hemolytic ไม่มีความแตกต่างกัน

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัยของการศึกษานี้

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยเชื้อ *E. faecalis* ที่นำมาศึกษาจะได้รับมาจากโครงการวิจัยเรื่อง “ความชุกของเชื้อ พอไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ฟิวโซแบคทีเรียม นิวคลีเอทัม และเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิสที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อและ Real-Time PCR” โดย พรชนก ศรีสังข์ และคณะ (2565) (ตารางที่ 1) ซึ่งมีการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *E. faecalis* ด้วยวิธี arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR) และเชื้อ *E. faecalis* เหล่านี้ถูกแยกมาจากผู้ป่วยที่มีรอยโรคร่วมระหว่างเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์ โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วย (Patient selection) ดังนี้

เกณฑ์การคัดเลือก (Inclusion criteria)

1) ผู้ป่วยอายุ 18 ปี ขึ้นไป

2) มีฟันแท้ที่มีการสร้างรากเสร็จสมบูรณ์

3) ฟันที่ต้องได้รับการรักษาคลองรากฟัน

4) ตัวฟันสามารถมีรอยผุ หรือวัสดุอุดได้

5) เป็นฟันที่ไม่ตอบสนองต่อการทดสอบด้วยความเย็น และเครื่องทดสอบความมีชีวิตของเนื้อเยื่อในโดยไฟฟ้า (Electric pulp tester; EPT) โดยในฟันที่มีหลายราก หากมีรากใดรากหนึ่งที่ไม่ตอบสนองต่อการทดสอบหรือ มีรอยโรคปลายรากฟันถือว่าเข้าเกณฑ์การคัดเลือก

6) ฟันที่มีร่องลึกปริทันต์ มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร อย่างน้อย 2 ตำแหน่ง

7) สามารถใส่แผ่นยางกันน้ำลายได้

เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

1) ฟันที่เคยผ่านการรักษาคลองรากฟันมาแล้ว

2) ฟันที่มีรอยทะลุของผนังรากฟัน (root perforation)

3) ร่องลึกปริทันต์ที่ไม่ได้เกิดจากโรคปริทันต์ เช่น crack tooth, crown-root fracture, vertical root fracture หรือกายวิภาคผิดปกติ (Abnormal anatomy) เช่น palatogingival groove

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนของเชื้อ *E. faecalis* ตามลักษณะทางพันธุกรรม (genotypes) และความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง (hemolysis) นำมาสำหรับใช้ในการศึกษา

***E. faecalis* strains**	**Genotyping**		**Hemolytic activity**	
	Ef.S	***Ef.D***	**Hemolysis**	**Non-hemolysis**
All strains, n = 54	36	18	38	16
Selected strains, n = 21	12	9	13	8

ที่มา: ดัดแปลงจากวิทยานิพนธ์ของ พรชนก ศรีสังข์ และคณะ (2565)

ศึกษาความสามารถของ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (oral keratinocyte cell line H357)

1) การเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

นำเชื้อแต่ละสายพันธุ์มาปริมาณ 5 ไมโครลิตร มา dot ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Blood agar (BA) จากนั้น streak เชื้อเพื่อให้แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ทำการเพาะเลี้ยงที่ อุณหภูมิ 37˚C เวลา 24 ชั่วโมง ใช้ loop แตะเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยว จำนวน 3-5 โคโลนี นำมาใส่ในหลอดเซนติฟิวก์ที่ปราศจากเชื้อขนาด 15 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain heart infusion (BHI) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37˚C เวลา 24 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียใน DMEM โดยเปรียบเทียบความขุ่นกับ McFarland No. 0.5 จะได้เชื้อปริมาณเท่ากับ 10^8 CFU/ml

2) การเพาะเลี้ยงเซลล์ oral keratinocyte cell line H357

เซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ คือ oral Keratinocyte H357 ซึ่งมาจากเซลล์มะเร็งเยื่อบุช่องปากของคน (oral squamous cell carcinoma) เลี้ยงด้วยอาหารสาหรับเคอราติโนไซต์ (keratinocyte growth medium; KGM) ประกอบด้วย อาหารหลัก 3 ต่อ 1 ของ DMEM และ Ham's F-12 เสริมด้วย epidermal growth factor (10 ng/ml) hydrocortisone (0.5 ug/ml) และ fetal bovine serum 10% ทำการบ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37°C มีความชื้นและมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% นำเซลล์ออกจากภาชนะเลี้ยงเมื่อเซลล์มีปริมาณ 80-90% ของภาชนะ ทำการถ่ายเซลล์ keratinocyte cell line H357 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในถาดพลาสติกเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุมแบบก้นแบน จำนวน 1 × 10^4 เซลล์ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 3 วัน ในบรรยากาศความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 หรือจนกว่าเซลล์จะมีปริมาณร้อยละ 90-95 ของภาชนะ

3) ทดสอบความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์ของ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกต่อ keratinocyte cell line H357 (การศึกษาจะมีการทดลอง 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งการทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง)

การทดสอบหาปริมาณเชื้อ *E. faecalis* ตั้งต้น ทำการนับโคโลนีเริ่มต้นของเชื้อที่ทำการทดสอบ โดยดูดสารละลายเชื้อ *E. faecalis* ที่ปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียใน DMEM โดยเปรียบเทียบความขุ่นกับ McFarland No. 0.5 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร มาทำten-fold serial dilution ด้วย PBS ปริ มาณ 180 ไมโครลิตร นำแต่ละความเข้มข้นที่ได้ปริมาณ 10 ไมโครลิตร มาเพาะเลี้ยงบน Blood agar (BA) ด้วยวิธี dot plate นำเพลทเข้าบ่มสภาวะ anaerobic incubator ที่อุณหภูมิ 37˚C เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับโคโลนีของเชื้อ *E. faecalis* และจดบันทึกผลเป็นค่า A0

4) การทดสอบการเกาะติดเซลล์โดยรวม (total adhesion)

เติมเชื้อ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกที่เตรียมไว้แล้วในขั้นต้นปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลุมที่มีเซลล์ที่ต้องการทดสอบ (โดยในขั้นตอนนี้จะเตรียมเชื้อที่บ่มร่วมกับเซลล์เหมือนกัน 2 ชุด) จากนั้นทำการบ่มเซลล์และเชื้อทั้ง 2 ชุด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37˚C เมื่อครบเวลานำเซลล์ทั้ง 2 ชุด มาล้างด้วย PBS 2 ครั้ง เพื่อล้างเชื้อที่ไม่เกาะเซลล์ออก จากนั้นแบ่งเซลล์ 1 ชุด มาทำการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่สามารถเกาะติดเซลล์ โดยการเติม PBS ร่วมกับ 0.05% trypsin-EDTA 1 มิลลิลิตรทุกหลุม เพื่อให้เซลล์หลุด จากพื้นของหลุมและนับจำนวนแบคทีเรียที่เกาะเซลล์ โดยทำการเจือจางแบบ tenfold serial dilution ด้วย PBS ปริมาณ 180 ไมโครลิตร นำแต่ละความเข้มข้นที่

ได้ปริมาณ 10 ไมโครลิตร มาทำการเพาะเลี้ยงบน Blood agar (BA) ด้วยวิธี dot plate นำเพลทเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C, 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและจดบันทึกผลเป็นค่า A1 เพื่อนำมาคำนวณค่า total adhesion ของเชื้อตามสูตรดังนี้

% Total adhesion = (log A1/ log A0) x 100

5) การทดสอบการเข้าสู่เซลล์ (internalization)

นำเซลล์ชุดที่ 2 หลังจากล้างเซลล์ตามขั้นตอน มาทำการเติมยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ละลายด้วย DMEM ในแต่ละหลุม หลุมละ 1 มิลลิลิตร เพื่อฆ่าเชื้อที่เกาะอยู่บริเวณรอบ ๆผิวเซลล์ บ่มเซลล์ต่อในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37˚C จากนั้นล้างด้วย PBS 2 ครั้ง แล้วจึงเติม PBS ร่วมกับ 0.05% trypsin-EDTA 1 มิลลิลิตร ทุกหลุมและนำมาเจือจางแบบ ten-fold serial dilution ด้วย PBS ปริมาณ 180ไมโครลิตร นำแต่ละความเข้มข้นที่ได้ปริมาณ 10 ไมโครลิตร มาเพาะเลี้ยงบน Blood agar (BA) ด้วยวิธี dot plate นำเพลทเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C, 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและจดบันทึกผลเป็นค่า A2 เพื่อนำมาคำนวณค่า internalization ของเชื้อตามสูตรดังนี้

% Internalization = (log A2/ log A0) x 100

6) การทดสอบการเกาะติดเซลล์ภายนอก (externalization)

ค่าการเกาะติดเซลล์ภายนอกสามารถคำนวณได้จาก

% Externalization = % Total adhesion - % Internalization

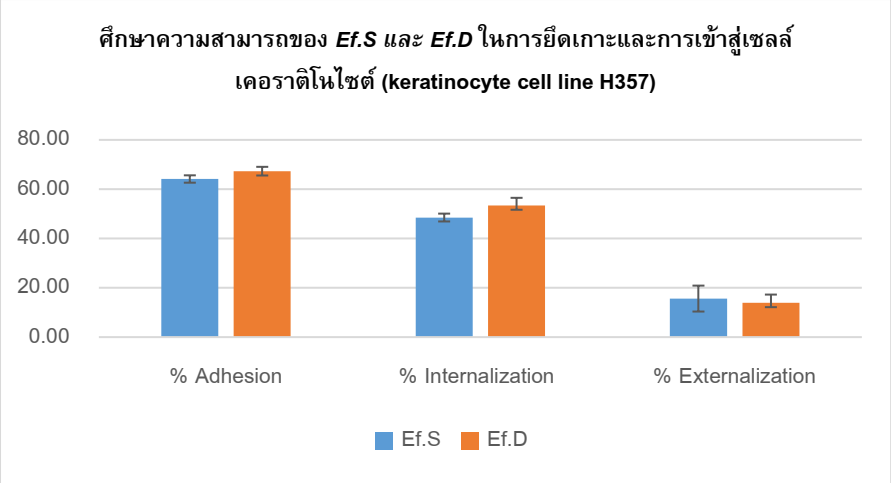
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ศึกษาความสามารถของ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกระหว่างกลุ่มที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน (*Ef.S*) และต่างกัน (*Ef.D*) ทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์จากสายพันธุ์ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบมีความแตกต่างกันหรือไม่ในการยึดเกาะบนผิวเซลล์และการเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงเซลล์ Keratinocyte H 357 วิเคราะห์โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ผลการวิจัย

ศึกษาความสามารถของ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกระหว่างกลุ่ม *Ef.S* และ *Ef.D* ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte cell line H357)

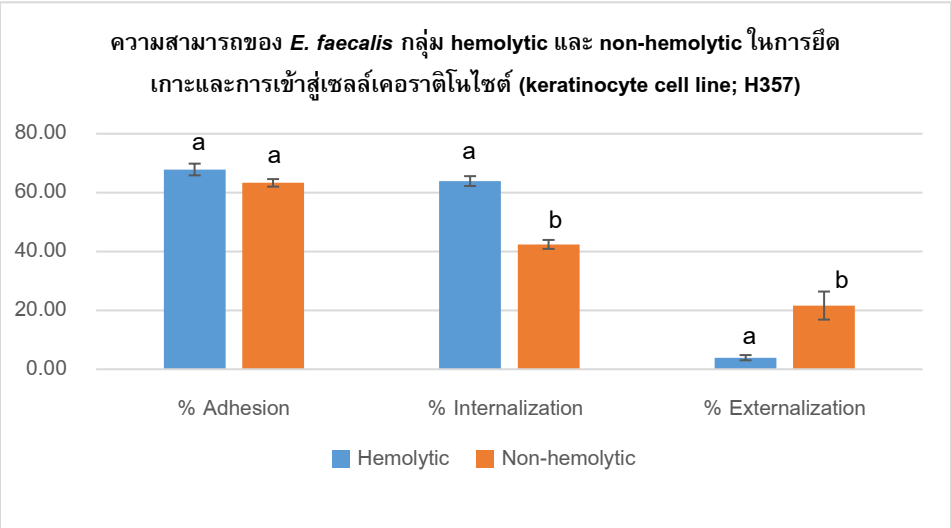
จากผลการทดลองพบว่า *E. faecalis* ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน (*Ef.S*) และต่างกัน (*Ef.D*) ทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์จากสายพันธุ์ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบมีความสามารถในการเกาะติดและการเข้าสู่เซลล์ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่า *Ef.S* และ *Ef.D* สามารถเกาะติดเซลล์ได้โดยรวม (total adhesion) เป็นร้อยละ 64.13 ±1.49 และ 67.31±1.76 ตามลำดับ (p = 0.111) และเมื่อพิจารณาความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ (internalization) มีค่าร้อยละ 48.50±1.59 และ 53.41±3.09 ตามลำดับ (p = 0.277) และความสามารถในการเกาะติดเซลล์ภายนอก(externalization) พบว่ามีค่าร้อยละ 15.63±5.26 และ 13.90±3.35 ตามลำดับ (p = 0.651) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ความสามารถของ *E. faecalis* ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte cell line; H357)

ศึกษาความสามารถของ *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกได้ทางคลินิกระหว่างกลุ่ม non-hemolytic และกลุ่ม hemolytic ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte cell line; H357)

จากผลการทดลองพบว่า *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ ระหว่างกลุ่ม hemolytic (8 สายพันธุ์) และกลุ่ม non-hemolytic (13 สายพันธุ์) มีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความสามารถในการเกาะติดเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่า เชื้อ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic และกลุ่ม non-hemolytic สามารถเกาะติดเซลล์ได้โดยรวม (total adhesion) เป็นร้อยละ 67.85 ± 2.0 และ 63.31±1.3 ตามลำดับ ($p = 0.064$) และเมื่อพิจารณาความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ (internalization) มีค่าร้อยละ 63.92±1.7 และ 42.40±1.5 ตามลำดับ ($p = 0.000$) และความสามารถในการเกาะติดเซลล์ภายนอก(externalization) พบว่า มีค่าร้อยละ 3.93±0.88 และ 21.63±4.76 ตามลำดับ ($p = 0.000$) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่2) โดย *E. faecalis* กลุ่มที่ hemolytic จะมีความสามารถในการเกาะติดเซลล์โดยรวม (total adhesion) และความสามารถในการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (internalization)ได้มากกว่ากลุ่ม non-hemolytic นอกจากนี้ กลุ่ม hemolytic สามารถเกาะติดเซลล์ภายนอก (externalization) ได้น้อยกว่ากลุ่ม non-hemolytic



ภาพที่ 2 ความสามารถของ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic และ non-hemolytic ในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte cell line; H357)

a,b แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์เป็นคุณสมบัติเบื้องต้นของแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อการก่อพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ซึ่งการศึกษานี้พบว่า *E. faecalis* สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วยที่มีรอยโรคร่วมระหว่างเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบได้ทั้งในคลองรากฟันและร่องลึกปริทันต์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน (*Ef.S)* และต่างกัน (*Ef.D)* มีความสามารถในการยึดเกาะเซลล์โดยรวม (total adhesion) ความสามารถเกาะติดภายนอกเซลล์ (externalization) และความสามารถในการเข้าสู่เซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte cell line H357) (internalization) ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อ *E. faecalis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีปัจจัยที่ใช้ในการยึดเกาะและเข้าสู่เซลล์คล้ายคลึงกันจึงทำให้ไม่พบความแตกต่างในการทดลอง และการศึกษานี้ได้ศึกษาความสามารถของ *Ef.S* และ *Ef.D* ในการยึดเกาะและเข้าสู่เซลล์เซลล์เคอราติโนไซต์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่พบได้ในเยื่อบุช่องปาก อยู่ชั้นนอกทำหน้าที่เป็นด่านป้องกันแรกจากการติดเชื้อต่างๆ พบว่า บริเวณรอบปลายรากฟันจะประกอบด้วยเอ็นยึดปริทันต์ที่สามารถพบเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้มากที่สุด เมื่อมีการรุกรานของเชื้อเกิดขึ้น เอ็นยึดปริทันต์จะเป็นด่านแรกที่พบกับแบคทีเรีย ดังนั้นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในเอ็นยึดปริทันต์จึงอาจเป็นเซลล์หลักในการตอบสนองและกำจัดเชื้อเหล่านี้ที่เข้ามาในบริเวณปลายรากฟัน จึงเป็นที่น่าสนใจว่าเซลล์เป้าหมายต่างชนิดกันอาจส่งผลให้ความสามารถในการยึดเกาะและเข้าสู้เซลล์ของ *Ef.S* และ *Ef.D* แตกต่างกันด้วย

แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถของเชื้อ *E. faecalis* ตามความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง (hemolytic) พบว่าเชื้อกลุ่ม hemolytic มีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ (internalization) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม non-hemolytic เป็นผลให้สามารถพบปริมาณเชื้อที่เหลือเกาะอยู่ภายนอกเซลล์ได้น้อยเมื่อเทียบกับกลุ่ม non-hemolytic ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าของ Thammasitboon et al. (2024) รายงานว่าพบ *E.faecalis* ที่แยกได้จากการรักษาคลองรากฟันล้มเหลวที่มีความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงสามารถเข้าสู่เซลล์เคอราติโซต์ได้มากกว่ากลุ่ม non-hemolytic ทั้งนี้ กลไกการก่อโรคของ *E. faecalis* จากการที่มีความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงซึ่งเอื้อให้เกิดการรุกรานเข้าสู่เซลล์นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ก่อนหน้านี้ มีการศึกษา*ในเชื้อ Staphylococcus aureus* ที่สามารถสร้าง α-haemolysinได้ พบว่า α-haemolysin มีการกระตุ้นให้ mast cell เกิดการแสดงออกของ β1-intergrins ส่งผลให้มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันระหว่าง fibronectin-binding protein A ของเชื้อแบคทีเรียและ β1-intergrins จากเซลล์โฮสต์ (Goldmann et al., 2016) และมีการศึกษาที่กล่าวถึง intergrins ว่าอาจมีความสำคัญในการส่งเสริมให้เกิดการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์ eukaryotic cell (Kreft et al., 1992) อีกทั้ง ยังมีการศึกษาที่สนับสนุนว่า fibronectin มีความสำคัญในการเอื้อให้เกิดการยึดเกาะ epithelial cells ได้ (Hynes, 1982)

จากผลการศึกษาข้างต้นชี้ทำให้ได้ทราบและเข้าใจถึงคุณสมบัติเบื้องต้นในการก่อโรคของ *E. faecalis* นั่นคือความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลทำให้สามารถก่อโรคได้ในกรณีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ และการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. faecalis* กลุ่ม hemolytic มีความสามารถในการยึดเกาะและเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่ากลุ่ม non- hemolytic ดังนั้นเชื้อในกลุ่มนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบที่มีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษานี้มีข้อจำกัดในแง่ของจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่มีจำนวนน้อย ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปควรมีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างของเชื้อ *E. faecalis* ให้มากขึ้น และอาจศึกษาเพิ่มเติมในปัจจัยก่อโรคด้านอื่นๆของ hemolytic *E. faecalis* ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ ไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติการต่อต้านยาปฏิชีนะ กลไกการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบในเซลล์ต่างๆ เป็นต้น รวมถึงอาจศึกษาความสัมพันธ์ของความสามารถในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์ของ *E. faecalis* กับอาการแสดงในทางคลินิกกรณีรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ และสามารถศึกษาเพิ่มเติมในเซลล์ชนิดอื่นๆด้วย เช่น human periodontal ligament cells และ human dental pulp cells เพื่อให้ทราบถึงกลไกของเชื้อในการยึดเกาะและการเข้าสู่เซลล์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พรชนก ศรีสังข์. (2565). *ความชุกของเชื้อพอไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ฟิวโซแบคทีเรียม นิวคลีเอทัม และเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ในรอยโรคร่วมระหว่างโรคเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์โดยวิธี Real-Time PCR*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ภรอิชณน์ สุขกระจ่าง. (2565). *ยีนก่อโรคและฟีโนไทป์ในเชื้อเอนเทอโรคอคคัส ฟีคาลิส ที่แยกจากรอยโรคร่วมระหว่างเนื้อเยื่อในและโรคปริทันต์อักเสบ*.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Chidambar CK, Shankar SM, Raghu P, Gururaj SB, Bushan KS. (2019). Detection of Enterococcus faecalis in subgingival biofilms of healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects. *J Indian Soc Periodontol, 23*(5), 416-8.

Goldmann O, Tuchscherr L, Rohde M, Medina E. (2016). α-Hemolysin enhances Staphylococcus aureus internalization and survival within mast cells by modulating the expression of β1 integrin. *Cell Microbiol, 18*(6), 807-19.

Gomes BP, Berber VB, Kokaras AS, Chen T, Paster BJ. (2015). Microbiomes of Endodontic-Periodontal Lesions before and after Chemomechanical Preparation. *J Endod, 41*(12), 1975-84.

Gomes BP, Drucker DB, Lilley JD. (1994). Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J., 27*(6), 291-8.

Huycke MM, Spiegel CA, Gilmore MS. (1991). Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant Enterococcus faecalis. *Antimicrob Agents Chemother, 35*(8), 1626-34.

Kobayashi T, Hayashi A, Yoshikawa R, Okuda K, Hara K. (1990). The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. *Int Endod J., 23*(2), 100-6.

Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. (1992). Aggregation substance of Enterococcus faecalis mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun, 60*(1), 25-30.

Langeland K, Rodrigues H, Dowden W. (1974). Periodontal disease, bacteria, and pulpal histopathology. Oral *Surg Oral Med Oral Pathol, 37*(2), 257-70.

Rôças IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. (2004). Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod, 30*(5), 315-20.

Rovai E, Matos F, Kerbauy W, Cardoso F, Martinho F, Oliveira L, et al. (2019). Microbial Profile and Endotoxin Levels in Primary Periodontal Lesions with Secondary Endodontic Involvement. *Brazilian Dental Journal, 30*, 356-62.

Seixas FH, Garrido AD, Vieira ML, Pécora JD, Saquy PC, Sousa-Neto MD. (2002). Clinical aspects of pulpal-periodontal lesions. *Aust Endod J., 28*(2), 82-5.

Thammasitboon K, Teanpaisan R, Pahumunto N. (2024). Prevalence and virulence factors of haemolytic Enterococcus faecalis isolated from root filled teeth associated with periradicular lesions: A laboratory investigation in Thailand. *Int Endod J., 57*(6), 769-83.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright: © 2024 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).