การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิดในการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อวิเคราะห์เชื้อเอชพีวีจากช่องปากและลำคอในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อเอชพีวี

สรสัณห์ รังสิยานนท์* เปี่ยมกมล วัชโรทยางกูร ทิพวัลย์ ปันคำ*** นิตยา ภานุภาค*****

บทคัดย่อ

เชื้อฮิวแมน แพปพิลโลมาไวรัส (เอชพีวี) จัดเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญอันหนึ่งในการก่อโรคมะเร็งที่บริเวณช่องปากและลำคอ ในยุคที่มีการใช้ยาต้านเชื้อรีโทรไวรัสชนิดประสิทธิภาพสูง พบว่าในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ ฮิวแมน อิมมูโนดิฟิเชียนซี ไวรัส (เอชไอวี) มีโอกาสเสี่ยงที่จะพบเชื้อเอชพีวีได้มากขึ้น แต่ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการพบเชื้อเอชพีวีในช่องปากในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเอชไอวี ยังไม่มีการพิสูจน์อย่างชัดเจน

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิดในการเก็บสิ่งส่งตรวจและวิเคราะห์ชนิดของเชื้อเอชพีวีจากช่องปากและลำคอของผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อเอชพีวี

วัสดุและวิธีการ ทำการศึกษาที่คลีนิคนิรนาม สภากาชาดไทย ช่วงระหว่างปี พ.ศ.2553-2554 โดยกลุ่มศึกษาเป็นผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีและยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จำนวน 20 คน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 คนเท่าๆ กัน ให้ผู้ป่วยกลุ่มละ 10 คน กลั้วช่องปากและลำคอ ด้วยน้ำยาบ้วนปากอย่างใดอย่างหนึ่งจากน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิด ได้แก่ น้ำยายี่ห้อสโคป ซึ่งเป็นสินค้านำเข้าไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย และน้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอล พลัคซ์ ซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย จากนั้นนำสิ่งส่งตรวจไปวิเคราะห์หาความชุกของเชื้อเอชพีวีด้วยกระบวนการพีซีอาร์ แล้วนำไปจำแนกชนิดของเชื้อเอชพีวีจำนวน 37 สายพันธุ์ ด้วยการใช้ลิเนียร์อะเรย์ เอชพีวี จีโนไทปิ้งเทสท์ ของบริษัท โรช โมเลกุลาร์ ซิสเท็มส์

ผลการศึกษา จากผู้ป่วยจำนวน 20 คน เป็นผู้ป่วยเพศชาย 12 คนและหญิง 8 คนช่วงอายุ 19-48 ปี (อายุเฉลี่ยเท่ากับ 36 ปี) พบว่าในกลุ่มที่ใช้น้ำยาบ้วนปากสโคป 10 คน มี 2 คนที่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสเอชพีวีคิดเป็นร้อยละ 20 โดยสามารถนำไปวิเคราะห์จำแนกชนิดเชื้อได้เป็นเชื้อเอชพีวีชนิด 16 และ 69 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ใช้น้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอล พลัคซ์ สามารถตรวจพบเชื้อเอชพีวีได้ 2 คน คิดเป็นร้อยละ 20 เช่นกันแต่ไม่สามารถจำแนกชนิดของไวรัสเอชพีวีได้ ซึ่งต่อมาได้ทำการทดลองเก็บตัวอย่างซ้ำในกลุ่มผู้ป่วยที่ในครั้งแรกใช้น้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอล พลัคซ์โดยในครั้งที่สองใช้น้ำยาบ้วนปาก สโคป แทน พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อเอชพีวีได้ 2 คนเหมือนเดิม และสามารถวิเคราะห์แยกชนิดเชื้อได้เป็นเชื้อเอชพีวีชนิด 45 และ 55 ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย น้ำยาบ้วนปากสโคปมีประสิทธิภาพในการเก็บสิ่งส่งตรวจจากบริเวณช่องปากและลำคอเพื่อการนำไปวิเคราะห์ชนิดของเชื้อเอชพีวีได้ดีกว่านำยาบ้วนปากคอลเกต โททอลพลัคซ์

คำสำคัญ : น้ำยาบ้วนปาก เชื้อเอชพีวี ชนิดของเชื้อเอชพีวี

**รองศาสตราจารย์ ** อาจารย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110*

****ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย*

A Comparative Study of the Effectiveness of 2 Mouthwashes in the Collection and Typing of HPV from the Oral Cavity and Oropharynx among High-Risk HPV Subjects

Sorasun Rungsiyanont* Piamkamon Vacharotayangul Tippawan Pankam*** Nittaya Phanuphak*****

Abstract

Human papillomavirus (HPV) is one of the important risk factors for oropharyngeal cancers. In the era of Highly-active anti-retroviral therapy (HAART), individuals with human immunodeficiency virus (HIV) infection have increased risk of HPV detection but the prevalence and risk factors for oral HPV infection are not well understood for both HIV-positive and HIV-negative individuals.

Objective: To compare the effectiveness of 2 mouthwashes in the collection and typing of HPV from the oral and oropharyngeal cavities among high-risk HPV subjects.

Materials and methods: This study was performed at The Thai Red Cross AIDS Research Centre Anonymous Clinic from years 2010-2011. Twenty subjects who were HIV-positive treated with HAART and signed the inform consent were included. These subjects were divided in to two groups, 10 subjects in each group. All 10 subjects in each group rinsed and gargled their mouth with one of the two mouthwashes which were either Scope mouthwash (imported product) or Colgate Total Plax mouthwash (local product). HPV prevalence was investigated by PCR analysis. The positive samples were subsequently analyzed to identify 37 HPV genotypes using Linear Array® HPV genotyping test (Roche Molecular Systems, Inc.).

Results: The subjects composed of 12 males and 8 females with age range from 19 to 48 years (mean age =36). In the group using Scope mouthwash, 2 cases (20%) were HPV positive with a successful typing for HPVs 16 and 69, respectively. In the group using Colgate Total Plax mouthwash, HPV were detected in 2 cases (20%) but HPV typing was unsuccessful. All subjects in the group using Colgate Total Plax mouthwash at the first time were asked to use Scope mouthwash at the later time. It was found that same subjects were positive for HPV and the DNA samples could be identified as HPV 45 and 55.

Conclusion: Scope mouthwash has higher effectiveness in the identification of the types of HPV in the oral and oropharyngeal cavities than Colgate Total Plax mouthwash.

Key words : Mouthwash, HPV, HPV typing

**Associate Professor, **Lecturer, Department of Oral Surgery and Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*

****Thai Red Cross AIDS Research Centre, Bangkok, Thailand.*

บทนำ

โรคติดเชื้อเอชไอวี เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของไทยมาเป็นระยะเวลานาน โดยพบว่าในปัจจุบันแม้ว่าจะมีการรณรงค์เพื่อการลดอุบัติการณ์ของการเกิดโรคนี้ แต่ก็ยังพบว่าการติดเชื้อเอชไอวียังเป็นปัญหาสำคัญของประเทศอยู่ อย่างไรก็ตามคุณภาพชีวิตผู้ป่วยมีการพัฒนาไปอย่างมาก ภายหลังจากที่มีการใช้ยาต้านไวรัสเอดส์ (Highly-active anti-retroviral therapy, HAART) อย่างแพร่หลายในผู้ติดเชื้อเอชไอวี มีรายงานจากหลายประเทศว่ารอยโรคติดเชื้อในช่องปากอันเกิดจากภาวะแทรกซ้อนที่ภูมิคุ้มกันบกพร่องนั้นลดจำนวนลงอย่างมาก เว้นแต่รอยโรคติดเชื้อจากไวรัสเอชพีวี (Human papillomavirus) เช่น หูด (Warts) กลับไม่ลดลง [1, 2] การใช้ยาต้านไวรัสเอดส์ HAART ในปัจจุบันนี้ส่งผลให้ผู้ติดเชื้อไวรัสเอชไอวีมีอายุยืนยาวขึ้นและเสี่ยงต่อการเป็นโรคเรื้อรังที่พบในผู้สูงอายุมากขึ้น รวมทั้งอาจจะส่งผลให้ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีเป็นมะเร็งที่ไม่สัมพันธ์กับเอชไอวีมากขึ้นกว่าที่ผ่านมา [3]

โรคมะเร็งในช่องปากถือเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญของประเทศไทย จากสถิติในปี พ.ศ. 2550 มะเร็งในช่องปากถือเป็นหนึ่งในสิบมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดในเพศหญิง โดยนับเป็นร้อยละ 3.5 ของมะเร็งที่พบทั้งหมด [4] แม้จะมีการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อช่วยในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง แต่ก็ยังพบว่าอัตราการรอดชีวิตภายใน 5 ปีก็ยังคงต่ำกว่าร้อยละ 60 [5] โดยอัตราการรอดชีวิตของคนไข้แปรผกผันกับการลุกลามของโรค ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัยโรค หรืออาจกล่าวได้ว่าการพยากรณ์ของโรคที่ได้รับการตรวจพบได้ระยะเริ่มต้นของการดำเนินโรคจะดีกว่าโรคที่ตรวจพบเมื่อลุกลามไปมากแล้ว [5] นอกจากนี้ผู้ป่วยยังได้รับผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตจากการรักษาของมะเร็งที่ลุกลามไปมาก เช่น สูญเสียเนื้อเยื่อของใบหน้าและขากรรไกร ส่งผลกระทบต่อความสวยงามและการทำหน้าที่ของอวัยวะนั้นๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาการตรวจพบมะเร็งของช่องปากในระยะเริ่มแรก และการป้องกันการเกิดมะเร็ง ในช่องปากอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อช่วยบรรเทาปัญหานี้ในประชากรไทยโดยรวม มีรายงานวิจัยหลายฉบับรายงานไว้ถึงปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดมะเร็งในช่องปากได้แก่ การสูบบุหรี่และดื่มสุรา อย่างไรก็ตามยังมีรายงานที่พบว่าผู้ป่วยมะเร็งในช่องปากส่วนหนึ่งไม่สูบบุหรี่ ดื่มเหล้าหรือเคี้ยวหมาก และมักเป็นผู้ป่วยที่มีอายุน้อย ทำให้มีการศึกษาค้นหาปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ที่นอกเหนือจากปัจจัยที่กล่าวไปแล้วโดยพบว่ามีรายงานวิจัยที่มากขึ้นเรื่อยๆ ในปัจจุบันถึงความสัมพันธ์เชื่อมโยงของการเกิดมะเร็งชนิดสความัสในกลุ่มประชากรกับการติดเชื้อเอชพีวี ซึ่งได้แก่กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัส HAART เป็นต้น

อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อมูลเกี่ยวกับการติดเชื้อเอชพีวีในช่องปากและลำคอในกลุ่มประชากรไทยมีจำกัด โดยเฉพาะกลุ่มประชากรที่มีรายงานวิจัยกล่าวไว้ว่าสามารถมีโอกาสการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีเพิ่มมากขึ้น ซึ่งได้แก่กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัส จึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาวิจัยในกลุ่มประชากรดังกล่าวที่อาจพบการติดเชื้อเอชพีวีได้มากกว่าในกลุ่มประชากรอื่น โดยประเด็นสำคัญในการศึกษาครั้งนี้ คือการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิด ชนิดหนึ่งมีรายงานวิจัยในต่างประเทศว่ามีประสิทธิภาพและเหมาะสมสำหรับการใช้เก็บสิ่งส่งตรวจเชื้อเอชพีวีจากช่องปากและลำคอแต่ไม่มีการนำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย กับน้ำยาบ้วนปากที่สามารถหาได้ในประเทศไทย หากสามารถจัดหาสารหรือน้ำยาบ้วนปากซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย เพื่อนำมาทดแทนกับที่มีรายงานวิจัยในต่างประเทศได้แล้ว ก็จะเป็นประโยชน์ที่จะนำมาใช้ศึกษาและวิจัยในประเด็นที่เกี่ยวกับเชื้อเอชพีวีได้เป็นอย่างดี อันจะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพื่อการศึกษาวิจัยในระยะยาวแบบไปข้างหน้า (prospective cohort) ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัสถึงอุบัติการณ์และอาการแทรกซ้อนจากโรคมะเร็งในช่องปากและลำคออันเนื่องมาจากเชื้อเอชพีวี การศึกษาเพิ่มเติมดังกล่าวจะช่วยให้เพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจในกลไกการเกิดโรคจะนำไปสู่การวางแผนการรักษาและป้องกันการเกิดโรคมะเร็งในช่องปากและลำคออันเกิด

จากเชื้อเอชพีวีได้อย่างมีประสิทธิภาพ วัตถุประสงค์ของงานวิจัย เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิดคือชนิดที่ใช้ในงานวิจัยต่างประเทศและชนิดที่มีจำหน่ายในเมืองไทย ในการเก็บเชื้อไวรัสเอชพีวีในช่องปากและลำคอของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัส

วัสดุและวิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างและเกณฑ์การคัดเลือก

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเก็บข้อมูลในผู้ป่วยในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2553-2554 โดยเป็นผู้ป่วยที่มาเข้ารับบริการการตรวจและรักษาที่คลีนิคนิรนาม ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย ที่ติดเชื้อเอชไอวีและได้รับยาต้านไวรัส HAART ขนานต่างๆ โดยไม่จำกัดระยะเวลาของการได้รับเชื้อ จำนวนทั้งสิ้น 20 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 คนเท่าๆ กันโดยในผู้ป่วย 1 คนจะถูกเก็บข้อมูลครั้งเดียว โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกให้เข้าร่วมวิจัย กล่าวคือ ผู้ป่วยมีอายุ 18 ปีขึ้นไป โดยยินดีเข้าร่วมโครงการและลงนามในเอกสารยินยอมเข้าร่วมโครงการ ซึ่งโครงการนี้ได้รับการพิจารณาและอนุญาตแล้วจาก คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเป็นผู้ป่วยที่มารับบริการต่างๆ ของคลีนิคนิรนาม สภากาชาดไทย โดยเป็นผู้ติดเชื้อเอชไอวีในระยะเวลาต่างๆ กันและได้รับยาต้านไวรัส HAART ขนานต่างๆ

การเก็บตัวอย่างจากช่องปาก

สำหรับการเก็บสิ่งส่งตรวจจะใช้น้ำยาบ้วนปากที่ใช้กลั้วในช่องปากและลำคอ 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคป (Scope, Proctor and Gamble, Inc.) และชนิดที่ 2 คือน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อคอลเกต โททอลพลัคซ์ (Colgate Total Plax, Colgate Palmolive Thailand Co., Ltd.)

ก่อนการเก็บตัวอย่าง ให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยน้ำเกลือ (0.5% Normal saline) เพื่อกำจัดเศษอาหารและสิ่งตกค้างในช่องปาก 1 ครั้ง จากนั้นจึงให้ผู้ป่วยกลั้วในช่องปากและลำคอด้วยน้ำยาบ้วนปาก 10 มิลลิลิตร ซึ่งแบ่งกลุ่มทดลองเป็น 2 กลุ่มๆ ละเท่าๆ กันและเป็นอิสระต่อกันโดยผู้ป่วย 1 รายจะถูกเก็บข้อมูลครั้งเดียว ให้ผู้ป่วยกลั้วน้ำยาบ้วนปากแช่ไว้ที่บริเวณลำคอ ระยะเวลานาน 30 วินาที จากนั้นให้บ้วนออกมาเพื่อนำสิ่งส่งตรวจที่ได้ไปศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยมีการปั่นตกเอาเฉพาะเซลล์เยื่อบุช่องปากและลำคอเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยด้วยชุดสกัด AmpliLute Liquid Media Extraxtion Kit

การตรวจหาเชื้อเอชพีวีและการจำแนกชนิดของเอชพีวี

ตัวอย่างที่ทำการเตรียมและเก็บที่ -80 องศาเซลลเซียล จะถูกนำมาตรวจหาเอชพีวี โดยใช้วิธีพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) ขยายดีเอ็นเอเป้าหมาย และใช้ เทคนิคของ LINEAR ARRAY® HPV Genotyping (LA-HPV) (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, USA) โดยใช้ ไพรเมอร์ L1 PGMY09/11 เพื่อขยาย HPV-DNA จาก 37 จีโนไทป์ ซึ่งรวมชนิดความเสี่ยงสูง (high risk, HR) ได้แก่ เอชพีวีชนิดที่ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 และ 82 ชนิดอาจมีความเสี่ยงสูง (probable high risk, PHR) ได้แก่ เอชพีวีชนิดที่ 26 และ 53 ชนิดความเสี่ยงต่ำ (low risk, LR) ได้แก่ เอชพีวีชนิดที่ 6, 11, 40, 42, 54, 55, 61, 70, 72, 81, และ CP6108 และชนิดที่ไม่ทราบความเสี่ยง (unknown risk, UR) ได้แก่ เอชพีวีชนิดที่ 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84, และ IS39 กล่าวโดยจำเพาะ ไพรเมอร์ PGMY09 และ PGMY11 จะนำมาใช้ที่ขยายส่วน 450 base pair ของ L1 ORF ของเอชพีวีชนิดต่างๆ หลังกระบวนการพีซีอาร์ ผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มจำนวนจะนำมาผ่านกระบวนการ hybridization ต่อ oligonucleotides เป้าหมายที่จำเพาะซึ่งถูกตรึงอยู่บนเมมเบรน และถูกตรวจพบโดย colorimetric reaction การทดสอบ LA-HPV สามารถระบุเอชพีวีทั้งชนิดความเสี่ยงสูงและชนิดความเสี่ยงต่ำ การทดสอบทั้งหมดจะทำโดยมีตัวควบคุมเบต้าโกลบิน (beta-globin

control), ตัวควบคุมผลบวก (positive control) และตัวควบคุมผลลบ (negative control) ร่วมด้วยเสมอ กระบวนการทั้งหมดจะดำเนินการผ่านเครื่อง 9700 thermocycler และตามขั้นตอนการตรวจของบริษัท วิเคราะห์หาดีเอ็นเอของเชื้อเอชพีวีโดยวิธี PCR (polymerase chain reaction) และวิเคราะห์ชนิดของเชื้อเอชพีวี ด้วยวิธี Linear Array® HPV Genotyping Assay (Roche Molecular Systems, USA) โดยมีขั้นตอนในการวิเคราะห์ใช้ตัวอย่างที่เตรียมไว้จากการปั่นล้างและใช้ตะกอนรวมกับ Supernatant ปริมาณ 250 µl และทำการสกัดและ elute 120 µl จากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดได้มาทำ PCR จำนวน 50 µl เมื่อได้ PCR product จะนำมาตรวจหา LINEAR ARRAY® HPV Genotyping 75 µl จากการรวบรวมข้อมูลที่ได้รับในทุกกระบวนการจึงนำข้อมูลที่ได้รับมาวิเคราะห์และนำเสนอเชิงพรรณนา

ผลการวิจัย

ข้อมูลผู้ป่วย

ผู้ป่วยที่เก็บข้อมูลครั้งนี้ มีทั้งหมด 20 คน ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มๆ ละ 10 คนสำหรับน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิดจำนวนเท่าๆ กัน เป็นผู้ป่วยเพศชาย 12 คนและหญิง 8 คน ช่วงอายุระหว่าง 19-48 ปี อายุเฉลี่ยเท่ากับ 36 ปี

ความชุกของเชื้อเอชพีวี

จากการเก็บตัวอย่างจากน้ำล้างในช่องปากและลำคอของผู้ป่วยจำนวน 20 คน พบว่าในกลุ่มที่ใช้น้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอลพลัคซ์จากจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 10 คน สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสเอชพีวี 2 คน คิดเป็น ร้อยละ 20 สำหรับกลุ่มทดลองที่ใช้น้ำยาบ้วนปากสโคป พบว่าจากตัวอย่างทั้งสิ้น 10 คน มี 2 คน ที่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสเอชพีวี คิดเป็นร้อยละ 20 เช่นกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงถึงรายละเอียดของผู้ป่วยจำแนกตามเพศและอายุในกลุ่มทดลองที่ 1 ซึ่งใช้น้ำยาบ้วนปากยี่ห้อคอลเกตโททอลพลัคซ์ในครั้งแรก และใช้น้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคปในครั้งต่อมา

ID	Male	Female	Age	Colgate Mouthwash	Scope mouthwash (following visit)
1		1	36	Not detected	Not detected
2		1	33	Not detected	Not detected
3		1	29	Not detected	Not detected
4		1	37	Not detected	Not detected
5	1		19	Not detected	Not detected
6	1		37	Not detected	Not detected
7	1		24	Detected, cannot be typed	HPV 55
8	1		22	Detected, cannot be typed	HPV 45
9	1		34	Not detected	Not detected
10	1		37	Not detected	Not detected

การจำแนกชนิดของเชื้อ

พบว่าผู้ป่วย 2 คนที่มีการติดเชื้อเอชพีวีที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยน้ำยาสโคปเป็นเชื้อเอชพีวีชนิด 16 และ 69 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนการวิเคราะห์ชนิดของเชื้อเอชพีวีจากผู้ป่วยที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยน้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอลพลัคซ์ ไม่สามารถนำไปวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของไวรัสเอชพีวีได้ (ตารางที่ 1)

การเก็บตัวอย่างซ้ำ

นอกจากนี้ได้ทำการทดลองเก็บตัวอย่างซ้ำในกลุ่มผู้ป่วย 10 คนที่เคยใช้น้ำยาบ้วนปากคอลเกต โททอลพลัคซ์ โดยในครั้งที่ 2 ใช้น้ำยาสโคป ซึ่งมีระยะเวลาห่างจากการเก็บในครั้งแรกนาน 6 เดือน ทำให้สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสเอชพีวีได้ 2 คนและนำไปวิเคราะห์แยกชนิดเชื้อได้เป็นเชื้อเอชพีวีชนิด 45 และ 55 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 2 แสดงถึงรายละเอียดของผู้ป่วยจำแนกตามเพศและอายุในกลุ่มทดลองที่ 2 ซึ่งใช้น้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคป

ID	Male	Female	Age	Scope mouthwash
11		1	45	HPV 16
12		1	48	Not detected
13		1	43	Not detected
14		1	46	Not detected
15	1		46	Not detected
16	1		44	Not detected
17	1		31	Not detected
18	1		44	HPV 69
19	1		25	Not detected
20	1		40	Not detected

บทวิจารณ์และสรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นโดยออกแบบเป็นการศึกษาเชิงห้องปฏิบัติการโดยการเก็บตัวอย่างจากน้ำล้างในช่องปากและลำคอของผู้ป่วย ที่คาดว่ามีอุบัติการณ์ในการติดเชื้อเอชพีวีได้มากกว่ากลุ่มคนทั่วไปซึ่งคือผู้ป่วยในกลุ่มที่มีการติดเชื้อเอชไอวีและได้รับยาต้านไวรัสแล้ว โดยเป็นการทดลองวิจัย ณ ช่วงเวลาหนึ่งเพื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปาก 2 ชนิดถึงความสามารถในการเก็บเซลล์ของช่องปากและลำคอเพื่อสกัดดีเอ็นเอและนำมาวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาเชื้อเอชพีวีได้ต่อไป โดยผลจากการวิจัยครั้งนี้จะได้ทราบถึงความชุกของการติดเชื้อเอชพีวีในกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวด้วย การทำวิจัยนี้ดำเนินการที่คลีนิคนิรนาม ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นสถานตรวจการติดเชื้อเอชไอวีที่ใหญ่ที่สุดในประเทศไทย ปัจจุบันคลีนิคนิรนามกำลังดำเนินการศึกษาการติดเชื้อเอชพีวีและมะเร็งจากเอชพีวีของอวัยวะเพศและทวารหนักในกลุ่มชายรักชายและกลุ่มผู้หญิงทั้งที่ติดและไม่ติดเชื้อเอชไอวี

สำหรับการเก็บเชื้อไวรัสเอชพีวีจากช่องปากและลำคอ พบว่าส่วนมากจะใช้น้ำยาบ้วนปากให้ผู้ป่วยกลั้วคอและนำไปวิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการต่อไป [13,14,15] เนื่องจากมีรายงานหลายฉบับแสดงให้เห็นถึงประโยชน์และวิธีการไม่ยุ่งยากมากเกินไป ใช้เวลาในการเก็บข้อมูลไม่นาน มีความเหมาะสมที่จะใช้เก็บข้อมูลในกลุ่มประชากรที่สนใจได้เป็นจำนวนมาก [11,16,17] อย่างไรก็ตาม พบว่ารายงานของอุบัติการณ์การตรวจพบเชื้อเอชพีวีในช่องปากและลำคอ หรือในช่องคลอด ช่องทวารหนักจากกลุ่มวิจัยต่างๆ มีความขัดแย้งกันพอสมควร ซึ่งเป็นไปได้ว่าขั้นตอนการเก็บสิ่งส่งตรวจ หรือวิธีการในการสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์หรือการตรวจหาเชื้อเอชพีวีจากตัวอย่างมีความแตกต่างกัน ในรายงานของ D'Souza และคณะ [11] ได้เก็บสิ่งส่งตรวจด้วยวิธีเดียวกันทั้งสิ้นคือใช้น้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคปปริมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วศึกษาผลของการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีต่างๆ พบว่า วิธีการสกัดดีเอ็นเอมีผลเป็นอย่างมากต่อการตรวจพบเชื้อเอชพีวีจากตัวอย่างน้ำกลั้วปากและคอ โดยพบว่าหากใช้วิธีการของ Puregene® จะได้ดีเอ็นเอปริมาณมากและมีความสะอาดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดวิธีอื่นๆ ส่งผลให้ตรวจพบเชื้อเอชพีวีได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้ดีเอ็นเอจากการสกัดด้วยวิธีอื่น ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้เลือกใช้เทคนิคการสกัดดีเอ็นเอแบบตกตะกอนโดยปรับปรุงจาก QIAmp DNA Blood Midi kit

จากที่พบอุบัติการณ์เกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อเอชพีวีได้มากขึ้นในกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อเอชไอวีรวมถึงโรคมะเร็งในช่องปากและคอในกลุ่มประชากรทั่วไปด้วย การหาวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมและใช้ได้ดีสำหรับงานทางทันตแพทย์จึงมีความสำคัญเพื่อใช้ตรวจหาความชุกของการติดเชื้อเอชพีวีในช่องปากและคอ เมื่อเปรียบเทียบวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจจากช่องปากและคอโดยการใช้น้ำยากลั้วในปาก การตัดชิ้นเนื้อและการใช้แปรงขนาดเล็กขูดเอาเนื้อเยื่อจากช่องปากและลำคอออกมาตรวจ พบว่าการใช้น้ำยากลั้วในปากให้ผลการตรวจพบเชื้อเอชพีวีในช่องปากได้สูงที่สุดในกลุ่มประชากรทั่วไป [18] การใช้น้ำยาบ้วนปากสำหรับเก็บสิ่งส่งตรวจจากช่องปากและลำคอของผู้ป่วย มีการศึกษาอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ โดยเฉพาะน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคป พบว่ามีการใช้มากในต่างประเทศ ดังมีรายงานถึงการใช้น้ำยาบ้วนปากชนิดนี้ในการเก็บตัวอย่างจากช่องปากและลำคอเพื่อสกัดดีเอ็นเอและตรวจหาเชื้อเอชพีวี เพราะมีประสิทธิภาพที่ดี ราคาไม่แพง รสชาติเป็นที่พึงใจของผู้เข้าร่วมวิจัยมากกว่าน้ำยายี่ห้ออื่นๆ และให้ผลการสกัดดีเอ็นเอปริมาณสูง [16,19] สามารถใช้เก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อการวิเคราะห์การเกิดมะเร็งของช่องคลอดที่เกี่ยวข้องกับเชื้อเอชพีวีได้ด้วย [16] อย่างไรก็ตามการนำไปใช้เพื่อเก็บสิ่งส่งตรวจต้องระวังในเรื่องปริมาณของน้ำยาบ้วนปากที่ใช้ด้วย ซึ่งมีรายงานว่าปริมาณที่เหมาะสมในการใช้เพื่อกลั้วช่องปากและลำคอคือปริมาณเท่ากับ 10 มิลลิลิตร [17] ซึ่งการวิจัยเก็บข้อมูลครั้งนี้ได้ใช้ปริมาณเท่ากับรายงานวิจัยที่ผ่านมาเสนอแนะไว้

สำหรับการเลือกใช้น้ำยาบ้วนปากเพื่อนำมาเปรียบเทียบกันนี้ เนื่องจากน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคปนั้นไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย ผู้วิจัยจึงพยายามหาน้ำยาบ้วนปากชนิดต่างๆ ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย หาได้ง่ายในท้องตลาดมาใช้ทดแทน เนื่องจากหากสามารถค้นพบน้ำยาบ้วนปากที่จะสามารถนำมาใช้แทนที่น้ำยาบ้วนปากสโคปได้ น่าจะมีประโยชน์ที่จะนำมาใช้ศึกษาและเก็บสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับการเก็บเชื้อเอชพีวีได้อย่างสะดวกในเมืองไทย โดยในรายงานจากการศึกษาขนาดใหญ่ที่ทำในหลายประเทศร่วมกัน ได้ใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีจำหน่ายในท้องถิ่นของแต่ละประเทศมาทำการทดลองและพบว่าสามารถให้ผลการสกัดดีเอ็นเอได้ดีใกล้เคียงกัน [20] ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงได้เลือกน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อคอลเกต โททอลพลัคซ์ เนื่องจากมีสัดส่วนและองค์ประกอบคล้ายกับน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคป และควบคุมการสกัดดีเอ็นเอและการตรวจหาเชื้อเอชพีวีด้วยขั้นตอนเดียวกัน ผลการทดลองพบว่า

น้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคปสามารถให้ผลนำไปวิเคราะห์ชนิดของเชื้อเอชพีวีได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อคอลเกตโททอลพลัคซ์ ในเบื้องต้น ผู้วิจัยพยายามวิเคราะห์ผลกระทบที่เกิดขึ้นเป็น 2 แนวทางคือ จากเทคนิคทางห้องปฏิบัติการเอง หรือเป็นผลมาจากน้ำยา เนื่องจากผู้วิจัยได้ใช้เทคนิคการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีตกตะกอนทั้งหมด ไม่ว่าสิ่งส่งตรวจจะมาจากน้ำยาบ้วนปากชนิดใดก็ตาม ผู้วิจัยจึงคาดว่าความแตกต่างในการตรวจพบเชื้อเอชพีวีอาจจะเป็นผลมาจากความแตกต่างขององค์ประกอบในน้ำยาบ้วนปากทั้งสองชนิดที่แม้จะคล้ายกันโดยเฉพาะในส่วนของสาระสำคัญที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal surfactant) คือสารเซติลไพริดิเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride:CPC) แต่ก็ไม่เหมือนกันทั้งหมด โดยในสัดส่วนที่ไม่เหมือนกันน่าจะมาจากปริมาณองค์ประกอบของแอลกอฮอล์ที่ใส่ในน้ำยาบ้วนปาก ซึ่งพบว่าน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อคอลเกตโททอลพลัคซ์ มีปริมาณของเอทธิลแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 5.7 (v/v) ส่วนน้ำยาบ้วนปากยี่ห้อสโคป มีปริมาณเท่ากับร้อยละ 15-18.9 (v/v) อันอาจจะทำให้ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ออกมาไม่เท่ากัน หรือน้ำยาบ้วนปากคอลเกตโททัลพลัคซ์อาจมีผลทำลายดีเอ็นเอของเชื้อเอชพีวีไปบางส่วน ทำให้พบปริมาณของเชื้อน้อยกว่าในตัวอย่างที่สกัดจากน้ำยาบ้วนปากสโคป

การทำวิจัยนี้ได้ข้อสรุปเบื้องต้นถึงชนิดของน้ำยาบ้วนปากที่จะสามารถนำมาใช้เพื่อการศึกษาเกี่ยวข้องกับการเก็บเชื้อเอชพีวีในช่องปากของผู้ป่วย อย่างไรก็ตามการวิจัยครั้งนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องจำนวนของผู้ป่วยที่นำมาศึกษา ทั้งนี้ผู้วิจัยจะได้เพิ่มจำนวนผู้ป่วยให้มากขึ้น รวมทั้งวางแผนเก็บข้อมูลในกลุ่มผู้ป่วยที่พบว่ามีเชื้อเอชพีวีในร่างกาย โดยวางแผนเปรียบเทียบแบบการควบคุมกลุ่มทดลอง (case control study) เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนและชี้ชัดถึงประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากในการใช้เพื่อเก็บข้อมูลผู้ป่วยในวงกว้างอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2555

เอกสารอ้างอิง

1. Greenspan D, Canchola AJ, MacPhail LA, Cheikh B, Greenspan JS: Effect of highly active antiretroviral therapy on frequency of oral warts. Lancet 2001; 357: 1411-1412.

2. Cameron JE, Hagensee ME: Oral HPV complications in HIV-infected patients. Curr HIV/AIDS Rep 2008; 5: 126-131.

3. Hessol NA, Pipkin S, Schwarcz S, Cress RD, Bacchetti P, Scheer S: The impact of highly active antiretroviral therapy on non-AIDS-defining cancers among adults with AIDS. Am J Epidemiol 2007; 165: 1143-1153.

4. National Cancer Institute, Department of Medical Services, Ministry of Public Health: Hospital-based Cancer Registry; Attasara P, Buasom R (eds), Bangkok, 2008.

5. National institute of dental and craniofacial research: Oral Cancer 5-Year Survival Rates by Race, Gender, and Stage of Diagnosis, 2009.

6. Cameron JE, Mercante D, O'Brien M, Gaffga AM, Leigh JE, Fidel PL, Jr., Hagensee ME: The impact of highly active antiretroviral therapy and immunodeficiency on human papillomavirus infection of the oral cavity of human immunodeficiency virus-seropositive adults. Sex Transm Dis 2005; 32: 703-709.

7. D'Souza G, Fakhry C, Sugar EA, Seaberg EC, Weber K, Minkoff HL, Anastos K, Palefsky JM, Gillison ML: Six-month natural history of oral versus cervical human papillomavirus infection. Int J Cancer 2007; 121: 143-150.

8. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML: Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. N Engl J Med 2007; 356: 1944-1956.

9. Epstein JB: Oral malignancies associated with HIV. J Can Dent Assoc 2007; 73: 953-956.

10. Li A, Phanuphak N, Sathianthammawit W, Avihingsanon A, Chaithongwongwatthana S, Teeratakupisarn N, van der Lugt J, Pankam T, Pakam C, Vermund S, Ruxrungtham K, Phanuphak P, J. A: HPV-associated anal disease in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men in Thailand International AIDS Conference. Mexico City, 2008.

11. D'Souza G, Sugar E, Ruby W, Gravitt P, Gillison M: Analysis of the effect of DNA purification on detection of human papillomavirus in oral rinse samples by PCR. J Clin Microbiol 2005; 43: 5526-5535.

12. Peyton CL, Gravitt PE, Hunt WC, Hundley RS, Zhao M, Apple RJ, Wheeler CM: Determinants of genital human papillomavirus detection in a US population. J Infect Dis 2001; 183: 1554-1564.

13. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, Graubard BI, Chaturvedi AK. Prevalence of oral HPV infection in the United States. JAMA 2012; 307(7): 693-703.

14. Beachler DC, Weber KM, Margolick JB, Strickler HD, Cranston RD, Burk RD, Wiley DJ, Minkoff H, Reddy S, Stammer EE, Gillison ML, D'Souza G. Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2012; 21(1): 122-133.

15. Broutian TR, He X, Gillison ML. Automated high throughput DNA isolation for detection of human papillomavirus in oral rinse samples. J Clin Virol 2011; 50(4): 270-275.

16. Castle PE, Sadorra M, Garcia FA, Cullen AP, Lorincz AT, Mitchell AL, Whitby D, Chuke R, Kornegay JR. Mouthwash as a low-cost and safe specimen transport medium for human papillomavirus DNA testing of cervicovaginal specimens. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007; 16(4): 840-843.

17. Koppikar P, deVilliers EM, Mulherkar R. Identification of human papillomaviruses in tumors of the oral cavity in an Indian community. Int J Cancer 2005; 113(6): 946-950.

18. Lawton G, Thomas S, Schonrock J, Monsour F, Frazer I. Human papillomaviruses in normal oral mucosa: a comparison of methods for sample collection. J Oral Pathol Med 1992; 21(6): 265-269.

19. Heath EM, Morken NW, Campbell KA, Tkach D, Boyd EA, Strom DA. Use of buccal cells collected in mouthwash as a source of DNA for clinical testing. Arch Pathol Lab Med 2001; 125(1): 127-133.

20. Kreimer AR, Villa A, Nyitray AG, Abrahamsen M, Papenfuss M, Smith D, Hildesheim A, Villa LL, Lazcano-Ponce E, Giuliano AR. The epidemiology of oral HPV infection among a multinational sample of healthy men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2011; 20(1): 172-182.

ติดต่อบทความ :
รศ.ทพ.ดร. สรสัณห์ รังสิยานนท์
ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110
โทรศัพท์ 02-649-5000 ต่อ 15060
จดหมายอิเล็กทรอนิกส์ : peted2000@hotmail.com

Correspondence author :
Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanont
Department of Oral Surgery and Oral Medicine,
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University,
Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110,
Thailand
Tel: 02-649-5000 ต่อ 15060
E-mail: peted2000@hotmail.com