การใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 เพื่อผลในการลดเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กเล็ก : การทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

Use of Milk Powder Contained Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* SD11 for Reducing Mutans streptococci in Young Children : A Randomized Controlled Trial

ณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

Natthinee Janwong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Oral Health Sciences
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 เพื่อผลในการลดเชื้อ mutans streptococci ในเด็กเล็ก : การทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

Use of Milk Powder Contained Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* SD11 for Reducing Mutans streptococci in Young Children : A Randomized Controlled Trial

ณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

Natthinee Janwong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Oral Health Sciences
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 เพื่อผลในการลดเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กเล็ก : การทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

ผู้เขียน นางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์พิเศษ ชุติมา ไตรรัตน์วรกุล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อ้อยทิพย์ ชาญการค้า)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดำรงค์ศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ……..…….....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ……..…….....
(นางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 เพื่อผลในการลดเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กเล็ก : การทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

ผู้เขียน นางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อระดับเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากเด็กเล็ก และศึกษาการคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในช่องปากเด็กเล็กภายหลังจากหยุดทานนมผงผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 เป็นเวลา 3 เดือนรวมถึงเพื่อประเมินผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในเด็กเล็ก **วิธีการศึกษา** ศึกษาในเด็กอายุ 2-5 ปี จำนวน 100 คน แบ่ง 2 กลุ่มคือ กลุ่มโพรไบโอติกได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของ *L. rhamnosus* SD11 ที่มีปริมาณเชื้อที่มีชีวิต 10^7 CFU/g และกลุ่มควบคุมได้รับนมผงปกติ โดยทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับนมทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน และมีการจดบันทึกการดื่มนมและผลข้างเคียงทุกวัน การวัดผลโดยเก็บน้ำลายวิธีไม่กระตุ้นที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) เพื่อนับจำนวนเชื้อ mutans streptococci เป็น CFU/ml และมีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ เพื่อดูความคงอยู่ของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 โดยวิธี AP-PCR **ผลการศึกษา** กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อ mutans streptococci น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา T3 และ T6 และเมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มโพรไบโอติก พบว่า มีการลดลงของปริมาณเชื้อ mutans streptococci อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะที่เวลา T3 สำหรับปริมาณเชื้อ lactobacilli ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตลอดการศึกษา พบการคงอยู่ของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 หลังจากหยุดทานนมผงผสมโพรไบโอติกเป็นเวลา 3 เดือนในช่องปากเด็กเล็ก และไม่พบกลุ่มตัวอย่างมีอาการข้างเคียงใดๆ **สรุปผลการศึกษา** การได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 เดือน สามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ได้ พบการคงอยู่ในช่องปากเด็กเล็กร้อยละ 11.11 ภายหลังจากหยุดทานโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เป็นเวลา 3 เดือน และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ ในกลุ่มเด็กเล็ก

Thesis Title	Use of Milk Powder Contained Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* SD11 for Reducing Mutans streptococci in Young Children : A Randomized Controlled Trial
Author	Miss Natthinee Janwong
Major Program	Oral Health Sciences
Academic Year	2018

ABSTRACT

Objectives: The aims of this study were to evaluate the effect of probiotic *L. rhamnosus* SD11 on the levels of salivary mutans streptococci (MS) in young children and to study whether this probiotic strain could persist in oral cavity. The potential side effects of probiotic were also evaluated. **Methods:** One hundred children aged between 2-5 years were divided into 2 groups: the probiotic group received milk contained *L. rhamnosus* SD11 (10^7 CFU/g) and the control group received regular milk powder, once daily for 3 months. Side effects and compliance were recorded every day. The numbers of MS and lactobacilli in saliva (CFU/ml) were counted at baseline (T0), 3-month (T3) and 6-month (T6). The persistence of *L. rhamnosus* SD11 was also investigated using AP-PCR for the DNA fingerprinting. **Results:** The significant reduction of salivary MS was found ($p<0.05$) in probiotic group at T3 and T6 when compared with the control group. The reduction of MS compared to baseline was found only at T3 in probiotic group. The number of lactobacilli were in the same level throughout the study. The persistence of *L. rhamnosus* SD11 could be detected in 11.11% of subject in oral cavity at 6-month (T6). There was no adverse effect in both group. **Conclusion:** Three months administration of milk containing probiotic *L. rhamnosus* SD11 showed the beneficial effect on reducing salivary mutans streptococci and can persist in oral cavity in young children. Probiotic *L. rhamnosus* SD11 was safe for use in young children.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ และศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล อาจารย์คณะทันตแพทยศาสตร์ ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาแนะนำความรู้ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล ในการแนะนำและให้ความรู้การทำวิจัยเกี่ยวกับการเลี้ยงเชื้อ การสกัดดีเอนเอของเชื้อ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้กรุณาให้แนวคิดข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ผู้สนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัยครั้งนี้ ขอบคุณหน่วยบัณฑิตศึกษา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆเรื่อง ขอขอบคุณนางสาวนงเยาว์ อุไรรัตน์ บุคลากรภาควิชาป้องกันที่ให้การสนับสนุน อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุกเรื่อง ขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาโอษฐวิทยา ที่คอยให้คำแนะนำและสอนการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาให้แก่ข้าพเจ้า และขอบคุณนางสาวชวรชต์ มาไพศาลสิน ที่คอยให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจในการทำวิจัย รวมถึงรุ่นพี่ และรุ่นน้องนักศึกษาหลังปริญญาสาขาทันตกรรมสำหรับเด็ก ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดจันทบุรี ผู้อำนวยการโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี โรงพยาบาลต้นสังกัดที่สนับสนุนทุนการลาศึกษาต่อของข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว ที่ มอบกำลังใจ และคอยสนับสนุนในทุกเรื่อง ขอขอบพระคุณคณาจารย์บุคลากรทุกท่านในภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและให้กำลังใจในการเรียนและทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา คุณงามความดีที่เกิดจากการวิจัยครั้งนี้ ขอมอบแด่บุพการีและคณาจารย์ทุกท่านที่เป็นผู้ประสิทธิประสาทวิชาตั้งแต่เริ่มต้นการศึกษาของข้าพเจ้า

ณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (8)

รายการตาราง (9)

รายการรูปภาพ (10)

บทที่

บทนำต้นเรื่อง 1

การทบทวนวรรณกรรม 4

วัตถุประสงค์ 18

2 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ 20

3 ผลการวิจัย 28

4 บทวิจารณ์ 35

5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 39

บรรณานุกรม 40

ภาคผนวก 45

ประวัติผู้เขียน 57

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 แสดงสรุปการศึกษาเกี่ยวกับผลของโพรไบโอติกต่อโรคฟันผุในกลุ่มเด็กเล็ก 12
ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละของเพศ และแสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ อายุของกลุ่มตัวอย่าง โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 28
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ากลางและ 95% CI ของ ปริมาณ เชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และ จำนวนด้านฟันผุ โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 29
ตารางที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) 31
ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มี ผลต่อการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น (T0) และ 3 เดือน (T3) 31
ตารางที่ 6 แสดงค่ากลางและ 95% CI ของของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ เชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) (เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม) 54
ตารางที่ 7 แสดงค่ากลาง และ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ เชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) (เปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกัน) 55
ตารางที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลา เริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) โดยแบ่งตามระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาตั้งต้นเป็น ระดับต่ำ กลาง สูง 56

รายการรูปภาพ

รูปภาพที่ **หน้า**

รูปที่ 1 แสดงกลไกของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีผลในช่องปาก 10
รูปที่ 2 แสดงแผนภาพขั้นตอนการศึกษา 22
รูปที่ 3 แสดงโคโลนีของเชื้อ mutans streptococci และ เชื้อ lactobacilli บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 26
รูปที่ 4 แสดงกราฟ box plot ของค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) 30
รูปที่ 5 แสดงกราฟ box plot ของค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) 33
รูปที่ 6 แสดงรูปแบบลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint) จากการทำ AP-PCR ที่เวลา 6 เดือน (T6) 34

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันปัญหาโรคฟันผุถือว่า เป็นปัญหาสำคัญทางทันตสุขภาพ โดยจากรายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศครั้งที่ 7 ปี พ.ศ. 2555 พบว่า เด็กก่อนวัยเรียนอายุ 3 ปี และ 5 ปี มีความชุกในการเกิดโรคฟันผุ ร้อยละ 51.8 และร้อยละ 78.5 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าระยะเวลาพียง 2 ปี เด็กไทยมีความชุกในการเกิดฟันผุเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงให้เห็นว่า เด็กไทยช่วงก่อนวัยเรียนมีความชุกและการลุกลามของโรคฟันผุที่สูง[1] และเมื่อดูข้อมูลเปรียบเทียบการเกิดโรคฟันผุในแต่ละภาคของประเทศไทยพบว่า ภาคใต้มีความชุกในการเกิดโรคฟันผุในช่วงอายุ 3 ปี และ 5 ปี คิดเป็นร้อยละ 61 และ ร้อยละ 83.4 ตามลำดับ ซึ่งถือว่า เป็นค่าสูงที่สุดในประเทศ และสูงกว่าค่าเฉลี่ยระดับประเทศ ดังนั้น ปัญหาโรคฟันผุในเด็กก่อนวัยเรียนในพื้นที่ภาคใต้จึงเป็นปัญหาที่สำคัญ ซึ่งผลกระทบจากการที่เด็กมีโรคฟันผุ คือ ก่อให้เกิดความเจ็บปวดในช่องปาก เกิดความ-ลำบากในการบดเคี้ยวอาหาร และทำให้เกิดการสูญเสียฟันไปก่อนเวลาอันควร ประกอบกับเด็กในวัยนี้เป็นช่วงวัยที่กำลังเจริญเติบโตและมีพัฒนาการในด้านต่าง ๆ สูงอาจมีผลต่อระดับสติปัญญา อารมณ์ และการเข้าสังคม ดังนั้น จึงควรให้ความสำคัญและเอาใจใส่การดูแลสุขภาพช่องปากในเด็กวัยนี้[2, 3]

โรคฟันผุเกิดจากการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคกับปัจจัยป้องกันโรค ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคปัจจัยหนึ่งคือ เชื้อก่อโรคฟันผุ โดยเชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคฟันผุคือ เชื้อ mutans streptococci โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ที่สูงกับการเกิดฟันผุในเด็กก่อนวัยเรียน[4] นอกจากนี้ยังพบว่า การที่เด็กได้รับเชื้อ *S. mutans* ในช่องปากตั้งแต่อายุยังน้อยจะส่งผลให้เด็กมีโอกาสเกิดโรคฟันผุได้รวดเร็วและรุนแรงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กที่ได้รับเชื้อ *S. mutans* ในช่องปากที่ช้ากว่า[5]

เชื้อประจำถิ่นในช่องปาก (Resident oral microflora) ถือว่ามีความสำคัญต่อสุขภาพช่องปากที่ดี โดยในเด็กช่วงอายุ 2-3 ปีแรก จะเป็นช่วงการสร้างเชื้อประจำถิ่นในช่องปาก ซึ่งหากมีการสร้างเชื้อประจำถิ่นที่ดีจะสามารถปกป้องร่างกายจากเชื้อก่อโรคได้[6] จากการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการรักษาโรคท้องเสียพบว่า เด็กที่ได้รับโพรไบโอติกจะสามารถตอบสนองต่อโรคท้องเสียได้ดีกว่าผู้ใหญ่ อาจเป็นเพราะเชื้อประจำถิ่นในช่องท้องเด็กยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ (immature)

ดังนั้นเชื้อโพรไบโอติกจึงมีโอกาสเข้าไปสร้างเป็นส่วนหนึ่งของเชื้อประจำถิ่นได้[7] แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบผลของโพรไบโอติกในช่องปากของเด็กกับผู้ใหญ่

WHO ได้ให้คำนิยามของคำว่า โพรไบโอติก (Probiotics) ไว้ว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตโดยเมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพร่างกายมนุษย์[8] โดยหลักการทำงานของโพรไบโอติกคือ การช่วยทำให้เกิดความสมดุลของเชื้อในร่างกาย ทำให้ร่างกายสามารถต่อต้านเชื้อก่อโรคได้ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาทางการแพทย์หลากหลายสาขา ได้แก่ ใช้ในการปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ ใช้ในการลดปริมาณคลอเรสเตอรอลในกระแสเลือด หรือการติดเชื้อราในช่องคลอด เป็นต้น[9, 10] รวมทั้งโรคในช่องปากได้แก่ โรคฟันผุ โรคปริทันต์ ภาวะกลิ่นปาก และการติดเชื้อราในช่องปาก[11, 12] โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก ได้แก่ กลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างกรดแลคติก (lactic producing bacteria) โดยกลุ่มแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุด คือ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*[13]

จากความสามารถของโพรไบโอติกในการช่วยปรับสมดุลของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากจึงได้มีการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ โดยพบว่า เชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นเชื้อโพรไบโอติกที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ mutans streptococci ได้[14] ปัจจุบันจึงได้มีแนวคิดในการพัฒนานำเชื้อโพร-ไบโอติก สายพันธุ์ต่างๆ มาใช้เพื่อป้องกันโรคฟันผุ หลายงานวิจัยพบว่า โพรไบโอติกสามารถช่วยป้องกันและลดการเกิดโรคฟันผุในกลุ่มเด็กเล็กได้[15-22] แต่จากผลการป้องกันโรคฟันผุที่ผ่านมาพบว่าโพรไบโอติกส่วนใหญ่มีความสามารถในการป้องกันโรคฟันผุได้ดี เมื่อมีการบริโภคโพรไบโอติกเป็นเวลาต่อเนื่อง แต่หากหยุดทานประสิทธิภาพในการป้องกันโรคฟันผุจะค่อยๆ ลดลงจนไม่สามารถป้องกันโรคฟันผุได้ แสดงให้เห็นว่า ในงานวิจัยที่ผ่านมานี้เชื้อโพรไบโอติกที่นำมาใช้มีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้เพียงชั่วคราว อาจเนื่องจากโพรไบโอติกเหล่านี้ไม่ได้คัดแปลงมาจากในช่องปากจึงไม่ใช่สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการดำรงอยู่ในช่องปาก[23, 24]

ด้วยเหตุนี้ Piwat และคณะในปี ค.ศ. 2010[25] จึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาเชื้อโพร-ไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการลดเชื้อ *S. mutans* และมีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้นาน โดยทำการคัดเลือกเชื้อโพรไบโอติกที่มาจากช่องปากเด็กที่ปราศจากฟันผุ พบว่า เชื้อ *Lactobacillus paracasei* SD1 (*L. paracasei* SD1) เป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติที่ดีจึงได้นำมาศึกษาทางคลินิกทั้งระยะสั้นและระยะยาวในอาสาสมัครสุขภาพดีพบว่า สามารถลดเชื้อ mutans streptococci และยังสามารถพบ

การคงอยู่ของเชื้อ *L. paracasei* SD1 ในช่องปากได้หลังจากหยุดทานนมนาน 3 เดือน และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ[26-28] จากนั้นจึงได้มีการนำมาศึกษาในกลุ่มเด็กเล็กอายุ 2-5 ปี โดยการผสมในนมผงรับประทานเป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 สามารถลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ได้ดี และไม่พบผลข้างเคียงใด ๆ เช่นเดียวกัน[29]

นอกจากนี้ในการศึกษาเพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดีในการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกพบเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* SD11 (*L. rhamnosus* SD11) ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นเช่นเดียวกับ *L. paracasei* SD1 จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อ *L. rhamnosus* SD11 สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ATCC ได้ดีว่าเชื้อชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[30] มีความสามารถในการยึดติดกับเนื้อเยื่อในช่องปาก (adhesion) และมีการยึดเกาะกับเชื้อแบคทีเรียตัวอื่น ๆ (aggregation) ได้ดี[31] จากนั้นจึงได้มีการนำมาศึกษาในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 20-23 ปี โดยให้โยเกิร์ตที่มี *L. rhamnosus* SD11 รับประทานเป็นเวลา 1 เดือน ผลการศึกษาพบว่า สามารถลดเชื้อ mutans streptococci ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และตรวจพบเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 หลังหยุดทานโพรไบโอติกไปแล้ว 4 สัปดาห์สูงถึงร้อยละ 80.95 และไม่พบอาการข้างเคียงใดๆ จากการทานโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก[32]

ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาต่อยอดเพื่อขยายการศึกษาลงไปในกลุ่มเด็กก่อนวัยเรียนเพื่อหวังผลป้องกันการเกิดโรคฟันผุ โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการใช้นมผงที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อการป้องกันโรคฟันผุในกลุ่มเด็กเล็กที่มีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งเชื้อ mutans streptococci และเพื่อศึกษาผลของการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากเด็กเล็ก รวมทั้งเพื่อประเมินผลข้างเคียงจากการดื่มนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในกลุ่มเด็กเล็ก

การทบทวนวรรณกรรม

โรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นหนึ่งในโรคที่พบบ่อยในช่องปาก จัดเป็นโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปาก ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในแผ่นคราบจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยสลายอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต และปล่อยกรดโดยเฉพาะกรดแลกติก ทำให้เกิดสภาวะที่เป็นกรดในช่องปาก ส่งผลให้เนื้อฟันเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) และเกิดเป็นฟันผุที่เป็นรู

โรคฟันผุในเด็กปฐมวัย (Early childhood caries) หมายถึง การมีฟันผุทั้งในระยะแรกเริ่มที่ยังไม่เป็นรู (non-cavitated caries) และเป็นรู (cavitated caries) รวมทั้งการสูญเสียฟันไปเนื่องจากโรคฟันผุ หรือการบูรณะฟันน้ำนมซี่ใดๆ ตั้งแต่ 1 ด้านขึ้นไป ในเด็กแรกเกิดจนถึงอายุ 71 เดือน[33] ซึ่งการเกิดโรคฟันผุในเด็กปฐมวัยเป็นปัญหาทันตสุขภาพสำคัญของเด็กไทยในช่วงก่อนวัยเรียน โดยจากรายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศครั้งที่ 7 พ.ศ. 2555 พบว่าเด็กก่อนวัยเรียนทั้ง 2 ช่วงอายุ 3 ปี และ 5 ปี ในปัจจุบันมีแนวโน้มการปราศจากฟันผุเพิ่มขึ้นจากในอดีต แต่ก็ยังพบว่า ความชุกของการเกิดโรคฟันผุยังสูงอยู่ โดยพบว่า เด็กอายุ 3 ปี ซึ่งเป็นขวบปีแรกที่มีฟันน้ำนมครบ 20 ซี่ มีความชุกในการเกิดฟันผุ ร้อยละ 51.8 และมีค่าเฉลี่ย ฟันผุ ถอน อุด (dmft) เท่ากับ 2.7 ซี่/คน สำหรับผลการสำรวจของเด็กอายุ 5 ปี พบว่า มีความชุกในการเกิดฟันผุร้อยละ 78.5 และมีค่าเฉลี่ย ฟันผุ ถอน อุด เท่ากับ 4.4 ซี่/คน ซึ่งถือว่า ในช่วงเวลาเพียง 2 ปี อัตราการลุกลามของโรคฟันผุสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงให้เห็นว่า แนวโน้มการเกิดโรคฟันผุจะเพิ่มขึ้นเมื่อเด็กมีอายุเพิ่มขึ้น[1] นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Teanpaisan R. และคณะ ในปี ค.ศ. 2007[34] ซึ่งได้ทำการสำรวจโรคฟันผุในเด็กช่วงอายุ 3-24 เดือน ในจังหวัดสงขลาพบว่า เด็กเริ่มมีฟันผุตั้งแต่อายุ 9 เดือน คิดเป็นร้อยละ 4.2 ซึ่งส่วนใหญ่จะผุอยู่ในระดับชั้นผิวเคลือบฟัน และเมื่อเด็กมีอายุ 12 เดือน พบว่าความชุกในการเกิดฟันผุเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 29.9 จะเห็นได้ว่า ในช่วงเวลาที่ผ่านมาเพียง 3 เดือน อัตราการเกิดฟันผุสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและรอยโรคฟันผุส่วนใหญ่มีการลุกลามถึงชั้นเนื้อฟัน และเมื่อมีการศึกษาต่อไปจนถึงอายุ 24 เดือน พบว่า เด็กมีฟันผุสูงขึ้นถึงร้อยละ 84.5 และรอยโรคฟันผุที่พบมีการลุกลามถึงโพรงประสาทฟันแล้ว ดังนั้น จะเห็นได้ว่า การเกิดโรคฟันผุในเด็กเล็กของภาคใต้มีความเสี่ยงสูงมากเมื่อเทียบกับระดับประเทศ และเมื่อเด็กมีอายุมากขึ้นจะมีโอกาสเกิดโรคฟันผุได้สูงขึ้น

ผลของโรคฟันผุในเด็ก

โรคฟันผุส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของเด็ก โดยส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการด้านต่างๆ ได้แก่ ด้านร่างกาย ด้านสติปัญญา ด้านจิตใจ ด้านอารมณ์ และด้านสังคม โดยในปี ค.ศ. 2016 Firmino และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของโรคฟันผุต่อคุณภาพชีวิตของเด็กก่อนวัยเรียน ผลการศึกษาพบว่า โรคฟันผุทำให้เด็กเกิดความรู้สึกเจ็บปวดในช่องปากได้มากที่สุด (ร้อยละ 79.7) รองลงมาคือ ความลำบากในการเคี้ยวอาหาร (ร้อยละ 35) ความลำบากในการดื่มเครื่องดื่มที่มีอุณหภูมิร้อนหรือเย็น (ร้อยละ 28.9) รวมทั้งมีผลกระทบทางด้านจิตใจ (ร้อยละ 26.5)[2] ซึ่งผลจากการปวดฟันและความลำบากในการทานอาหารและดื่มเครื่องดื่มส่งผลให้เด็กทานอาหารได้น้อยลง ผลตามมาคือ เด็กมีน้ำหนักตัวต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน และอาจทำให้ขาดสารอาหารตามมาได้[35] ส่วนผลกระทบทางด้านจิตใจส่งผลให้เด็ก ขาดความมั่นใจในการยิ้มหรือการแสดงออก จึงทำให้ไม่อยากไปโรงเรียนหรือเข้าสังคม นอกจากนี้โรคฟันผุยังมีผลรบกวนการนอนหลับและขัดขวางการออกเสียง ทำให้พัฒนาการทางด้านภาษาไม่ดีเท่าที่ควร[3] ซึ่งเด็กในวัยนี้เป็นช่วงวัยที่มีการเจริญเติบโตและมีพัฒนาการสูง ดังนั้นจึงควรให้ความสำคัญและเอาใจใส่ในการดูแลสุขภาพช่องปากตั้งแต่แรกเริ่ม

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการเกิดโรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นโรคที่เกิดจากหลายปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ ปัจจัยในตัวบุคคลหรือปัจจัยโฮสต์ (host) ประกอบด้วยฟันและน้ำลายของโฮสต์ ปัจจัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (agent) และปัจจัยแวดล้อม (environment)ได้แก่ อาหาร โดยแต่ละปัจจัยมีผลต่อกระบวนการเกิดโรคฟันผุ ดังนี้

1) ปัจจัยโฮสต์

1.1) ฟัน

รูปร่างและโครงสร้างของฟันส่งผลต่อการเกิดโรคฟันผุที่แตกต่างกัน เช่น ฟันกรามที่มีหลุมร่องฟันที่ลึกและขรุขระส่งผลให้คราบจุลินทรีย์มีโอกาสติดฟันได้ง่ายและการทำความสะอาดทำได้ยาก ส่งผลให้โอกาสเกิดโรคฟันผุมีมากขึ้น และในชั้นเคลือบฟันของฟันที่เพิ่งขึ้นมาในช่องปากจะมีโอกาสผุได้ง่าย เนื่องจากฟันที่เพิ่งขึ้นจะมีกระบวนการการสะสมแร่ธาตุยังไม่สมบูรณ์ (Pre-eruptive maturation) นอกจากนี้ยังพบว่า ฟันน้ำนมจะมีชั้นของเคลือบฟันและเนื้อฟันที่น้อยกว่าฟันแท้ ดังนั้นฟันน้ำนมจึงมีโอกาสลุกลามได้รวดเร็วกว่าฟันแท้ และมีโอกาสทะลุโพรงประสาทฟันได้มากกว่าเมื่อเทียบกับฟันแท้

1.2) น้ำลาย

อัตราการไหลของน้ำลายและส่วนประกอบในน้ำลายเป็นส่วนสำคัญในการลดโอกาสการเกิดโรคฟันผุ โดยการชะล้างของน้ำลายจะทำให้กรดเจือจางลงและช่วยในการบัฟเฟอร์ (buffer) สภาวะกรดในช่องปากให้กลับคืนสู่สภาวะเป็นกลาง ทำให้ไม่เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ นอกจากนี้น้ำลายยังมีไอออนของแคลเซียมและฟอสเฟสซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ (remineralization) และมีสารต้านจุลชีพหลายชนิด ได้แก่ ไลโซไซม์ (lysozyme) แลคโตเฟอริน (lactoferrin) เอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase enzymes) และมีระบบภูมิคุ้มกัน เช่น อิมมูโนโกลบุลินเอที่หลั่งมาจากน้ำลายชนิด (salivary secretory immunoglobulins ; s-IgA) ซึ่งจะช่วยในการยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนั้นหากมีการรบกวนการทำงานของต่อมน้ำลายก็จะส่งผลทำให้ความเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุสูงขึ้น

2) ปัจจัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคฟันผุคือ เชื้อในกลุ่ม mutans streptococci และ lactobacilli โดยมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเด็กที่มีฟันผุในช่องปากกับจำนวนเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์พบว่า เด็กที่มีรอยโรคฟันผุในช่องปากจะมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ทั้งในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูง[34, 36] ซึ่งเชื้อในกลุ่ม mutans streptococci สามารถแบ่งเป็น 2 ซีโรไทป์ คือ *S. mutans* และ *Streptococcus sorbinus* (*S. sorbinus*) โดย *S. mutans* เป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคฟันผุ เนื่องจากสามารถสร้างกรดได้จำนวนมาก สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง และเชื้อ *S. sorbinus* สามารถสังเคราะห์พอลิแซคคาไรด์ในเซลล์ (intracellular polysaccharide) ซึ่งช่วยในการผลิตกรดในระหว่างที่ขาดอาหารจากภายนอกได้[37] ส่วนเชื้อในกลุ่ม lactobacilli ก็สามารถผลิตกรดและทนต่อกรดได้ดีเช่นเดียวกัน[38] นอกจากนี้มีรายงานพบเชื้อชนิดอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์กับรอยโรคฟันผุด้วยเช่นกัน เช่น เชื้อ *Candida albicans*, เชื้อ *Actinomyces* spp. และ เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ซึ่ง Fragkou และคณะในปี ค.ศ. 2016[37] ได้ทำการศึกษาปริมาณเชื้อ *S. mutans, S. sorbinus* และเชื้อ *C. albicans* ในช่องปากเด็กที่มีฟันผุพบว่า พบเชื้อ *S. mutans, S. sorbinus* และเชื้อ *C. albicans* ร้อยละ66, ร้อยละ 11 และร้อยละ 18 ตามลำดับ ดังนั้น จะเห็นได้ว่า เชื้อ *S. mutans* เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุหลัก และมีความรุนแรงต่อการเกิดโรคฟันผุสูง แต่เชื้อกลุ่มอื่นๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก็ส่งผลให้เกิดโรคฟันผุได้เช่นเดียวกัน

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Teanpaisan R. และคณะ[34] ได้ทำการศึกษาตรวจจำนวนเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลายของเด็กไทยอายุ 3-24 เดือนพบว่า พบ

เชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ได้ตั้งแต่ฟันยังไม่ขึ้น แสดงว่า เชื้อทั้งสองกลุ่มมีความสามารถในการเกาะติดกับเนื้อเยื่อในช่องปากได้ และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเชื้อทั้งสองชนิดพบว่า จำนวนเชื้อในช่วงอายุ 12 เดือนแรก เชื้อ lactobacilli จะพบมากกว่าเชื้อ mutans streptococci แต่เมื่อเด็กมีอายุเพิ่มขึ้น ในช่วงอายุ 18-24 เดือน พบเชื้อ mutans streptococci มีจำนวนมากกว่าเชื้อ lactobacilli ซึ่งสัมพันธ์กับจำนวนฟันผุที่เพิ่มมากขึ้น ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า การที่เด็กได้รับเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli เร็วตั้งแต่วัยทารกทำให้เด็กมีโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กที่ได้รับเชื้อดังกล่าวช้ากว่า จึงอาจกล่าวได้ว่า การได้รับเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ที่เร็วถือเป็นปัจจัยเสี่ยงปัจจัยหนึ่งในการเกิดโรคฟันผุในเด็กเล็ก แต่อย่างไรก็ตามจะมีเชื้อ lactobacilli บางสายพันธุ์ (species) ได้แก่ *L. rhamnosus, L. acidophilus, L. fermentum, L. paracasei, L. gasseri* เป็นต้น มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อ lactobacilli และเชื้อ mutans streptococci ที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุได้ จึงได้มีการศึกษาเชื้อ lactobacilli สายพันธุ์ดังกล่าวเพื่อให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเป็นโพรไบโอติกที่ดีสำหรับการป้องกันฟันผุ

3) ปัจจัยแวดล้อม

อาหารถือเป็นปัจจัยแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคฟันผุ โดยพบว่าความถี่ในการรับประทานอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่สูง ชนิดของคาร์โบไฮเดรตบางชนิด และลักษณะอาหารเหนียวติดฟันส่งผลให้เกิดโรคฟันผุ โดยพบว่า น้ำตาลซูโครสถือเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีผลต่อโรคฟันผุมากที่สุด เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่ย่อยแล้วทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดสูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่น นอกจากนี้เชื้อในกลุ่ม mutans streptococci สามารถใช้น้ำตาลซูโครสสร้างพอลิเมอร์ของโพลิแซกคาไรด์ที่เรียกว่า กลูแคน (glucan)ได้ ส่งผลทำให้เชื้อกลุ่ม mutans streptococci สามารถยึดติดกับผิวเคลือบฟันและแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ดี ดังนั้นถ้ามีการบริโภคน้ำตาลซูโครสในความถี่ที่สูงจะมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของเชื้อกลุ่ม mutans streptococci ทำให้เด็กมีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุสูงขึ้น รวมทั้งลักษณะอาหารที่เหนียวติดฟันจะส่งผลทำให้เกิดฟันผุได้ง่าย เนื่องจากอาหารจะคงอยู่และสัมผัสกับผิวฟันได้นานกว่าลักษณะอาหารในรูปแบบ

การป้องกันโรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นกระบวนการที่เกิดจากการเสียสมดุลระหว่างปัจจัย 2 ด้านคือ ปัจจัยก่อโรคและปัจจัยป้องกันโรค โดยปัจจัยก่อโรคประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้ ความผิดปกติของน้ำลาย และความถี่ในการบริโภคอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ส่วนปัจจัยป้องกันโรคประกอบด้วยอัตราการไหลและองค์ประกอบในน้ำลาย ฟลูออไรด์ สารต้านจุลชีพ และเชื้อ

โพรไบโอติกที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคฟันผุได้ ซึ่งกลยุทธ์ในการป้องกันโรคฟันผุอาจแบ่งเป็น 2 แนวทาง[39] ได้แก่

แนวทางแรกคือ การลดปัจจัยก่อโรค เช่น การกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งทางกลและการใช้สารเคมี ทางกลได้แก่ การควบคุมแผ่นคราบจุลินทรีย์ การใช้สารเคมี ได้แก่ การใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น คลอเฮ็กซีดีน รวมทั้งการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการบริโภคอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาล นอกจากนี้การใช้เชื้อโพรไบโอติกในการลดเชื้อ mutans streptococci ก็ยังมีผลช่วยป้องกันโรคฟันผุได้เช่นเดียวกัน[14, 40] ส่วนแนวทางที่สองคือ การสนับสนุนปัจจัยป้องกันโรค เช่น การเคลือบฟลูออไรด์เจล/วานิช การเคลือบหลุมร่องฟัน เป็นต้น

ที่ผ่านมาแม้ว่าจะมีการป้องกันโรคฟันผุในเด็กเล็กในประเทศไทยหลากหลายวิธี เช่น การส่งเสริมให้แปรงฟันตั้งแต่ฟันขึ้น การลดการบริโภคอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต การทาฟลูออไรด์ วานิชเป็นประจำ หรือ การทำ ART (Atraumatic restorative treatment) เพื่อป้องกันการลุกลามของโรคฟันผุ แต่ก็ยังพบว่า เด็กในช่วงก่อนวัยเรียนยังมีอัตราการเกิดโรคฟันผุที่สูงอยู่ โดยเฉพาะในภาคใต้ ดังนั้นการนำโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ mutans streptococci จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อป้องกันโรคฟันผุในกลุ่มเด็ก

โพรไบโอติก

โพรไบโอติกมาจากภาษากรีกซึ่งมีความหมายว่า “for life” โดยองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (United Nations Food and Agriculture Organization (FAO)) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization (WHO))[8] ได้ให้คำนิยามโพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพร่างกายมนุษย์ (“live micro-organisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host”) ซึ่งกลไกในการทำงานของโพรไบโอติก มีดังนี้[41]

1. สามารถลดเชื้อก่อโรค โดยการแย่งแหล่งอาหารของเชื้อก่อโรค แย่งพื้นที่ในการสร้างโคโลนี ส่งผลให้สิ่งแวดล้อมบริเวณไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค จึงสามารถลดจำนวนของเชื้อก่อโรคได้
2. สามารถผลิตสารต้านเชื้อก่อโรคได้ ได้แก่ กรดอินทรีย์, แบคทีริโอซิน เป็นต้น โดยสารเหล่านี้จะเข้าไปทำลายเซลล์ของเชื้อก่อโรคและยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ตาย
3. สามารถยึดเกาะกับผิวเนื้อเยื่อได้ดี โดยอาศัย mucous binding protein ที่อยู่บนผิวของเชื้อโพรไบโอติกในการยึดเกาะกับผิวเนื้อเยื่อ

4. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเนื้อเยื่อในการป้องกันเชื้อก่อโรคเข้าสู่ร่างกาย โดยการส่งเสริมให้เนื้อเยื่อมีความแข็งแรงสามารถต้านต่อการบุกรุกของเชื้อโรคได้ ร่วมกับมีการหลั่งสาร mucin เพื่อลดการเกาะของเชื้อ
5. ช่วยเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทั้งระบบ innate และ adaptive immune response

ด้วยประโยชน์ดังกล่าวจึงได้มีการนำโพรไบโอติกแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ โดยเริ่มจากการนำเชื้อโพรไบโอติกที่มีต้นกำเนิดมาจากในลำไส้มาใช้รักษาโรคทางระบบทางเดินอาหาร ซึ่งพบว่า ให้ผลการรักษาที่ดี และในปัจจุบันโพรไบโอติกได้มีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้น โดยมีการนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น การแก้ไขภาวะท้องเสีย การรักษาโรคลำไส้อักเสบ การรักษาโรคภูมิแพ้ การรักษาภาวะติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ การรักษาช่องคลอดอักเสบจากเชื้อรา การปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย การรักษาระบบทางเดินหายใจ การบำบัดโรคซึมเศร้า และยังสามารถช่วยลดปริมาณคลอเรสเตอรอลในกระแสเลือดได้อีกด้วย[10] โดยเชื้อโพรไบโอติกที่ถูกนำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแอนแอโรบิกแกรมบวกแบซิลไล (anaerobic gram positive bacilli) ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*[13]

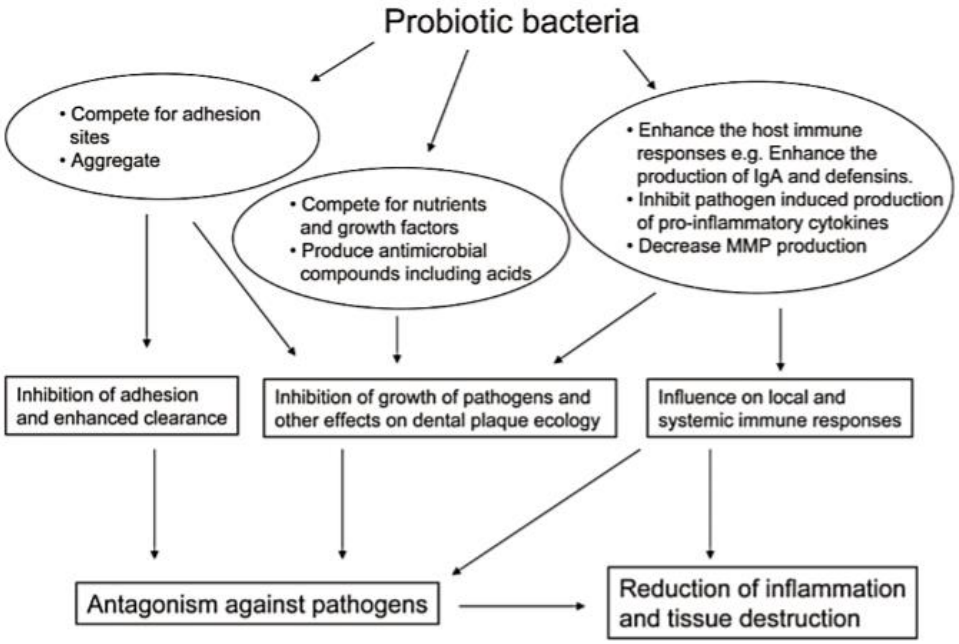
โพรไบโอติกกับสุขภาพช่องปาก

ในทางทันตกรรมมีการศึกษาถึงการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการป้องกันโรคฟันผุ โรคปริทันต์ การติดเชื้อราแคนดิดา ภาวะกลิ่นปาก และการลดเกิด white spot lesion ในผู้ป่วยที่จัดฟัน[10-12] ซึ่งกลไกของโพรไบโอติกในการป้องกันการเกิดโรคในช่องปากมีทั้งผลทางตรง (direct interactions) และผลทางอ้อม (indirect interactions) ดังนี้[12, 41, 42]

<u>กลไกของโพรไบโอติกในทางตรง</u> โดยการไปมีผลโดยตรงต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

1. สามารถลดการยึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรคได้ จากการหลั่งสาร biosurfactant substances ซึ่งมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ protein binding sites ของ saliva pellicle ที่ปกคลุมผิวฟันและเนื้อเยื่ออ่อนในช่องปาก ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถยึดเกาะกับพื้นผิวในช่องปากได้
2. สามารถสร้างสารยับยั้งแบคทีเรีย (antimicrobial substances) ได้ ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ แบคทีริโอซิน และสารยับยั้งอื่นๆ ซึ่งสารเหล่านี้จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

3. สามารถแย่งแหล่งอาหารของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ทำให้เชื้อก่อโรคขาดแหล่งอาหารในการเจริญเติบโต



รูปที่ 1 แสดงกลไกของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีผลในช่องปาก[12]

<u>กลไกของโพรไบโอติกในทางอ้อม</u> ดังนี้

1. กระตุ้นให้เกิดการสร้างสมดุลของระบบนิเวศของเชื้อในช่องปาก โดยส่งเสริมให้เกิดการหลุดออกของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และเกิดการสร้างใหม่ของเชื้อแบคทีเรียที่ดีในการเป็นองค์ประกอบของเชื้อประจำถิ่นในช่องปาก
2. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเนื้อเยื่อในช่องปาก โดยมีการควบคุมการเลือกผ่าน (permeability) ของเนื้อเยื่อในช่องปาก
3. กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบจำเพาะ (specific immunity) และแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) ของร่างกาย เพื่อให้ร่างกายสามารถต้านทานต่อการบุกรุกของเชื้อก่อโรคได้ โดยโพรไบโอติกไปมีผลต่อการทำงานของ neutrophil และ NK cells

โพรไบโอติกกับโรคฟันผุ

จากการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคฟันผุพบว่า เชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นเชื้อโพรไบโอติกที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ mutans streptococci ได้[43] ปัจจุบันจึงได้มีแนวคิดในการพัฒนานำเชื้อโพรไบโอติกมาใช้เพื่อป้องกันโรคฟันผุมากมายหลายกลุ่มอายุ และหลากหลายผลิตภัณฑ์ ซึ่งในกลุ่มเด็กเล็กก็เป็นกลุ่มอายุหนึ่งที่มีความน่าสนใจ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า โพรไบโอติกสามารถลดเชื้อ mutans streptococci ในช่องปาก ลดการลุกลามของโรคฟันผุทั้งฟันผุในระยะเริ่มต้นและฟันผุที่เป็นรู และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงสรุปการศึกษาเกี่ยวกับผลของโพรไบโอติกต่อโรคฟันผุในกลุ่มเด็ก

ผู้แต่ง (ปี ค.ศ.)	จำนวนตัวอย่าง (อายุ)	รูปแบบผลิตภัณฑ์ / เชื้อโพรไบโอติก	ระยะเวลาการศึกษา	ผลการศึกษา
Nase และคณะ (2001)[15]	594 คน (1-6 ปี)	นม / *Lactobacillus Rhamnosus* GG, ATCC 53103 ($5\text{-}10 \times 10^5$ CFU/ml)	7 เดือน	- กลุ่มเด็กที่ดื่มนมที่มีส่วนผสมขอโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 มีการลดลงของจำนวนเชื้อ MS ในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ - กลุ่มโพรไบโอติกสามารถลดการเกิดโรคฟันผุได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Campus และคณะ (2014)[18]	191 คน (6-8 ปี)	ยาอม / *Lactobacillus brevis* CD2 (2×10^9 g)	6 สัปดาห์	- กลุ่มเด็กที่อมยาที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. brevis* CD2 มีการลดลงของจำนวนเชื้อ MS ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.01$)
Siddiqui และคณะ (2016)[16]	20 คน (6-9 ปี)	นม / *Lactobacillus casei Shirota* (6.5×10^9 cells)	7 วัน	- กลุ่มเด็กที่ดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. casei Shirota* มีการลดลงของจำนวนเชื้อ MS ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
Stensson และคณะ (2014)[22]	232 คน (0-1 ปี) มารดาตั้งครรภ์ 113 คน	สารน้ำมัน / *Lactobacillus reuteri*, ATCC 55730 (10^8 CFU/ml)	มารดา 4 สัปดาห์ทารก 1 ปี	- กลุ่มเด็กโพรไบโอติกพบ caries free มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) - การเกิดโรคฟันผุบริเวณซอกฟันในกลุ่มโพรไบโอติกพบน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) - จำนวนเชื้อ MS และเชื้อ LB ในน้ำลายพบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นเพราะช่วงเวลาที่นานเกินไป (8 ปี) หลังจากหยุดให้โพรไบโอติก

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ผู้แต่ง (ปี ค.ศ.)	จำนวนตัวอย่าง (อายุ)	รูปแบบผลิตภัณฑ์ / เชื้อโพรไบโอติก	ระยะเวลาการศึกษา	ผลการศึกษา
Stechsen-Blicks และคณะ (2009)[21]	248 คน (1–5 ปี)	นมอัดเม็ด / - *Lactobacillus Rhamnosus* LB21 (10^7 CFU/ml) - Fluoride 2.5 m g/lit	21 เดือน	- กลุ่มเด็กที่ดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโติก *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 มีการลดลงของจำนวนเชื้อ MS ในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ - กลุ่มโพรไบโอติกสามารถลดการเกิดโรคฟันผุได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Hajikand และคณะ (2015)[19]	138 คน (2-3 ปี)	ยาอัดเม็ด / three strains (ProBiora3®) (*S. uberis* KJ2™, *S. oralis* KJ3™, *S. rattus* JH145™) (10^8 total CFU)	1 ปี	- การเกิดฟันผุ ในกลุ่มโพรไบโอติก น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยจะให้ผลชัดเจนในฟันผุในระยะเริ่มต้น (initial caries) มากกว่าฟันผุที่มีรูแล้ว (cavitated caries) และฟันที่หยุดลุกลาม (arrested caries) - ความชุกในการเกิดโรคฟันผุ (caries prevalence) มีอัตราลดลงร้อยละ 22 แต่พบว่าไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุม
Rodriguez และคณะ (2016)[44]	261 คน (2-3 ปี)	นม / *Lactobacillus rhamnosus* SP1 (10^7 CFU/mL)	10 เดือน	- กลุ่มที่ได้รับนมโพรไบโอติกมีการลุกลามของโรคฟันผุน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในรอยโรคฟันผุที่เป็นรูในระดับ ICDAS 5-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางสรุปพบว่า โพรไบโอติกจะมีผลต่อการลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากได้หลังจากที่รับประทานโพรไบโอติกติดต่อกันเป็นระยะเวลาสั้นเพียง 7 วัน และจะมีผลต่อเนื่องไปตลอดระยะเวลาที่ทานโพรไบโอติก ส่วนผลการลดการลุกลามของรอยโรคฟันผุจะสามารถเห็นผลการเปลี่ยนแปลงได้ช้ากว่า ในส่วนของรูปแบบผลิตภัณฑ์ของโพรไบโอติกจะเห็นได้ว่า มีการใช้หลากหลายรูปแบบ เช่น นม ยาอม นมอัดเม็ด แต่ที่นิยมใช้ในกลุ่มเด็กเล็กคือ ในรูปแบบของนม นอกจากนี้ช่วงวัยนี้จะมีการรับประทานนมอยู่เป็นประจำทำให้ง่ายต่อการรับประทานของเด็ก โดยเชื้อโพรไบโอติกส่วนใหญ่ที่ใช้ในการศึกษาคือ เชื้อ *L. rhamnosus* ที่มีสายพันธุ์แตกต่างกัน เช่น *L. rhamnosus* SP1, *L. rhamnosus* LB21, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* hct 70 เป็นต้น

แม้ว่าผลของโพรไบโอติกจะสามารถป้องกันฟันผุได้ แต่ผลดังกล่าวจะมีผลเฉพาะช่วงที่ได้รับประทานโพรไบโอติก หากหยุดรับประทานผลของโพรไบโอติกในการป้องกันโรคฟันผุจะค่อยๆ ลดลง แสดงว่า เชื้อโพรไบโอติกไม่มีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้นาน ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาคุณสมบัติในการคงอยู่ในช่องปากของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG และ *L. reuteri* ซึ่งเป็นเชื้อที่มาจากช่องท้อง ผลการศึกษาพบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถอยู่ในช่องปากได้เพียงชั่วคราวเท่านั้น[23, 24] ซึ่งการที่เชื้อโพรไบโอติกดังกล่าวไม่สามารถคงอยู่ในช่องปากได้นาน อาจเนื่องมาจากเชื้อกลุ่มดังกล่าวไม่ใช่สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการดำรงชีวิตอยู่ในช่องปาก หรือไม่ได้มีแหล่งกำเนิดมาจากในช่องปาก

สายพันธุ์เชื้อโพรไบโอติกในช่องปาก

สายพันธุ์เชื้อโพรไบโอติกส่วนใหญ่ที่นำมาใช้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคในช่องปาก คือ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เช่น *B. bifidum, L. casei* และ *L. rhamnosus* GG ซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่ได้แยกมาจากในช่องปากโดยตรง จากการศึกษาการคงอยู่ของเชื้อ *L. rhamnosus* GG ซึ่งเป็นเชื้อที่นำมาจากในช่องท้องพบว่า มีการคงอยู่ของเชื้อเพียง 3.6% หลังหยุดดื่มน้ำผลไม้เป็นเวลา 7 วัน แสดงให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG ไม่สามารถคงอยู่ในสภาวะช่องปากได้นาน อาจเนื่องมาจากไม่ใช่เชื้อที่มีถิ่นกำเนิดมาจากในช่องปากโดยตรง ดังนั้นจึงเกิดแนวคิดในการหาเชื้อที่มีความเหมาะสมในการคงอยู่ในสภาวะช่องปาก

ในปี ค.ศ. 2010 Piwat และคณะ[30] มีการจำแนกเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มาจากในช่องปาก โดยทำการศึกษาจากน้ำลายเด็กอายุ 2-5 ปี จำนวน 165 คน เพื่อหาสายพันธุ์ของเชื้อ *Lactobacillus* จากในช่องปาก พบว่า เชื้อ *Lactobacillus* ที่ตรวจพบมีจำนวน 10 สปีชีส์ ซึ่งเชื้อ

L. rhamnosus เป็น 1 ใน 10 สปีชีส์ และพบว่า เชื้อดังกล่าวไม่สัมพันธ์กับโรคฟันผุ จากนั้นนำเชื้อสายพันธ์ต่างๆ มาศึกษาทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเป็นโพรไบโอติกที่ดีในช่องปาก พบว่า เชื้อ *L. paracesei* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *L. plantarum, L. rhamnosus, L. salivarius* และ *L. casei* นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ *L. rhamnosus* และ *L. paracesei* มีความสามารถในการยึดติดกับเนื้อเยื่อในช่องปาก (adhesion) และการยึดเกาะกับเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นๆ (aggregation) ได้ดี[31] จึงมีผลทำให้เชื้อ *L. rhamnosus* และ *L. paracesei* มีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้ดี ซึ่งเป็นการบ่งบอกถึงการมีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นโพรไบโอติกที่เหมาะจะนำมาใช้ในช่องปาก

จากนั้นจึงได้มีการเริ่มทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ โดยการนำเชื้อ *L. paracesei* SD1 มาผสมในนมและศึกษาผลการได้รับโพรไบโอติกนี้ในอาสาสมัครวัยรุ่นทั้งในระยะสั้น (4 สัปดาห์) และระยะยาว (3 เดือน) และในผู้ป่วยปากแหว่งเพดานโหว่รับประทานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ได้ดี และตรวจพบการคงอยู่ของเชื้อ *L. paracesei* SD1 ร้อยละ 70 หลังหยุดทานนมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และพบการคงอยู่ ร้อยละ60 หลังหยุดรับประทานนมไปเป็นเวลา 3 เดือน แสดงให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. paracesei* SD1 มีคุณสมบัติในการคงอยู่ที่ดีในช่องปาก[26-28] รวมทั้งศึกษาในกลุ่มเด็กเล็กอายุ 2-5 ปี รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. paracesei* SD1 เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า เด็กที่รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. paracesei* SD1 สามารถลดเชื้อ *S. mutans* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบการคงอยู่ของเชื้อ *L. paracesei* SD1 เพียง 1.96% หลังหยุดรับประทานนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกทันที อาจเนื่องมาจากในกลุ่มเด็กที่ทำการศึกษามีฟันผุสูง (กลุ่มเด็กมีฟันผุเฉลี่ย 9.72 ซี่/คน) และมีเชื้อ *S. mutans* สูงตั้งแต่ก่อนรับประทานนม จึงอาจส่งผลให้เชื้อโพรไบโอติก *L. paracesei* SD1 ไม่สามารถเกาะตัวอยู่ในช่องปากแทนที่เชื้อต่างๆ ที่มีจำนวนมากในช่องปากได้ และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ จากการรับประทานนมโพรไบโอติก[29]

***Lactobacillus rhamnosus* SD11**

Lactobacillus rhamnosus SD11 เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่แยกมาจากช่องปากของเด็กที่ปราศจากฟันผุเช่นเดียวกับเชื้อ *L. paracesei* SD1 แต่จากศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบว่า *L. rhamnosus* SD11 มีความสามารถในการยึดเกาะ และการเกาะกลุ่มแบบ autoaggregation และ coaggregation ที่สูงกว่า *L. paracasei* SD1[31] และสามารถผลิตกรดได้น้อยกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ[25] ด้วยคุณสมบัติที่เหมาะสมของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 จึงได้มีการศึกษาทางคลินิกในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 20-23 ปี จำนวน 43 คน โดยให้รับประทานโยเกิร์ตที่มี

ส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า สามารถลดเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 สูงถึงร้อยละ 80.95 หลังหยุดทานโยเกิร์ตโพรไบโอติกนาน 4 สัปดาห์ และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีผลในการลดเชื้อก่อโรคฟันผุ มีการคงอยู่ในช่องปากที่ดี และมีความปลอดภัยในการรับประทานในกลุ่มอาสาสมัคร[32]

ความเสี่ยงของการได้รับโพรไบโอติก

โพรไบโอติกถูกนำมาใช้ประกอบในอาหารและผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มมาเป็นเวลายาวนาน ปัจจุบันได้มีการนำโพรไบโอติกมาใช้เพื่อรักษาโรคต่างๆ มากขึ้น โดย WHO และ FAO ได้มีการกล่าวถึงผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกไว้ว่า โพรไบโอติกสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อทางระบบได้ เช่น การเกิด Fungemia ซึ่งสามารถพบได้มากที่สุดหลังจากได้รับโพรไบโอติก *S. boulardii* หรือ Bacteremia จากการได้รับโพรไบโอติก *Lactobacilli acidophilus, L. casei, L. rhamnosus GG* และยังสามารถทำให้เกิดภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ (deleterious metabolic activities) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่มากเกิน และการเกิดการส่งผ่านของยีนส์ (gene transfer) นอกจากนี้อาจมีอาการข้างเคียงทางระบบทางเดินอาหารได้ เช่น ปวดเกร็งที่ท้อง, คลื่นไส้, ถ่ายนิ่ม, มีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และอาจทำให้เกิดการรับรสชาติที่เปลี่ยนไป[45] แต่อย่างไรก็ตามจากผลข้างเคียงที่มีโอกาสเกิดขึ้นได้นั้นจะสัมพันธ์กับผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวหรือผู้ป่วยที่มีความบกพร่องทางระบบภูมิคุ้มกัน และจากการศึกษาของ Borriello และคณะ ในปี ค.ศ. 2003[46] พบว่า การได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกมีอันตรายหรือผลข้างเคียงน้อยมาก มีรายงานพบการติดเชื้อ เช่น การติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือด และติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจอักเสบพบเพียง 0.05% - 0.4% และไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อฉวยโอกาส ซึ่งการติดเชื้อส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวที่ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันต่ำ

จากการศึกษาของ Floch, M. H. ในปี ค.ศ. 2013 พบว่า โพรไบโอติกมีความปลอดภัยในการรับประทาน โดยไม่พบอันตรายจากการได้รับผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในคนที่มีสุขภาพแข็งแรง ยกเว้นในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised patient) ผู้ป่วยที่ต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกัน รวมทั้งเด็กแรกเกิดที่มีอายุครรภ์น้อยกว่า 37 สัปดาห์ (Preterm infant) ผู้ป่วยเหล่านี้ถือว่ามีความเสี่ยงสูงในการเกิดการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ผู้ป่วยที่ถือว่าเสี่ยงในระดับรองลงมา คือ ผู้ป่วยที่ใส่สายสวนทางหลอดเลือดดำ (central venous catheters) ผู้ป่วยที่มีผนังลำไส้บกพร่อง หรือผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับยาฆ่าเชื้อชนิดที่มีการครอบคลุมการออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum)

หลายตัวร่วมกัน หรือผู้ป่วยที่มีภาวะผิดปกติที่ลิ้นหัวใจ แต่อย่างไรก็ตามผลข้างเคียงเหล่านี้สามารถพบได้น้อยมาก[47] ซึ่งโดยสรุปแล้วไม่พบผลอันตรายของการใช้โพรไบโอติกในคนที่มีสุขภาพแข็งแรง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ที่แยกมาจากช่องปากของเด็กที่ปราศจากฟันผุเช่นเดียวกับโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ที่ใช้ในการศึกษาก่อนหน้าพบว่า ไม่พบผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกดังกล่าว และจากการศึกษาเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 ที่ผสมในโยเกิร์ตให้อาสาสมัครวัยรุ่นรับประทานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบรายงานผลข้างเคียงจากการบริโภคโพรไบโอติกตลอดการศึกษาดังกล่าวเช่นกัน

การเก็บตัวอย่างแบคทีเรียจากในช่องปาก

ชนิดและการตรวจหาชนิดของเชื้อแบคทีเรียจากในช่องปากสามารถทำได้ ดังนี้

1. น้ำลาย
   1.1. การเก็บน้ำลายโดยการกระตุ้น (Stimulated saliva) เป็นการเก็บน้ำลายที่เกิดจากการกระตุ้นโดยอาจกระตุ้นด้วยการเคี้ยวแผ่นพาราฟิน หรือหมากฝรั่งที่ปราศจากน้ำตาล ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ การเคี้ยวทำให้เกิดการชะล้างจากบริเวณต่างๆในช่องปาก ทำให้เชื้อที่เพาะขึ้นเป็นตัวแทนที่ดีในช่องปาก วิธีนี้จึงเหมาะสำหรับการตรวจที่ต้องการน้ำลายปริมาณมากหรือมีการทดสอบหลายชนิดในเวลาเดียวกัน
   1.2. การเก็บน้ำลายโดยไม่ได้กระตุ้น (Unstimulated saliva) เป็นการเก็บน้ำลายที่ไม่ได้เกิดจากการกระตุ้น ทำได้โดยบ้วนน้ำลายในภาชนะที่แห้งสะอาดจนได้ปริมาณที่มากพอ ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสียคือ อาจต้องใช้เวลาในการเก็บนานขึ้นกว่าการเก็บน้ำลายโดยวิธีกระตุ้น
   1.3. Spatula method เป็นการเก็บน้ำลายโดยใช้ไม้พาย (spatula) ซึ่งสามารถใช้ได้กับการเก็บน้ำลายโดยการกระตุ้นและไม่ได้กระตุ้น การตรวจด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่ง่ายและใช้ตัวอย่างน้ำลายเพียงเล็กน้อยจึงเหมาะในการนำมาใช้กับผู้ป่วยที่ให้ความร่วมมือน้อยเช่นเด็กหรือผู้ที่มีน้ำลายน้อย แต่มีข้อเสียคือ อาจไม่ใช้เป็นตัวแทนที่ดีเพื่อบอกชนิดของเชื้อในช่องปากทั้งหมดเพราะใช้ตัวอย่างตรวจน้อย แต่สามารถบอกชนิดเชื้อที่มีมากกว่าเชื้ออื่นๆเท่านั้น และความไวของการตรวจมีข้อจำกัดโดยเฉพาะการใช้ในผู้ป่วยผู้ใหญ่
   1.4. Oral rinse method เป็นการเก็บน้ำลาย โดยใช้สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์หรือน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 10 มิลลิลิตรเป็นตัวชะล้าง โดยให้อมกลั้วปากเป็นเวลา 1 นาทีและเก็บตัวอย่างในภาชนะ[48]

2. คราบจุลินทรีย์ (plaque) คราบจุลินทร์ที่ใช้ในการตรวจหาชนิดของเชื้อโดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งแบ่งได้เป็นคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือกและคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก ซึ่งโรคฟันผุมักจะเก็บจากคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก

แม้ว่าการเก็บน้ำลายโดยวิธีกระตุ้นถือว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุด สามารถเก็บจำนวนเชื้อในช่องปากได้จากหลายตำแหน่งในช่องปาก แต่ด้วยข้อจำกัดในการให้ความร่วมมือของกลุ่มศึกษาที่เป็นเด็กเล็ก ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงพิจารณาใช้วิธีในการเก็บน้ำลายแบบไม่กระตุ้น ซึ่งจากการศึกษาของ Campus และคณะในปี 2014[18] ได้ใช้วิธีนี้ในการเก็บน้ำลายเด็กเช่นเดียวกัน

จากคุณสมบัติของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 ที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติก ประกอบกับยังไม่มีการศึกษาเพื่อใช้ป้องกันฟันผุในกลุ่มเด็กเล็ก ดังนั้นจึงมีการศึกษาต่อเนื่องจากแนวคิดของการศึกษาก่อนหน้า โดยเป็นการศึกษาผลของการใช้นมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อการป้องกันโรคฟันผุในกลุ่มเด็กเล็ก

คำถามการวิจัย

1. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 มีผลต่อเชื้อ mutans streptococci แตกต่างกันหรือไม่
2. การคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากของเด็กเล็ก ภายหลังจากหยุดรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 แล้วสามารถคงอยู่ได้ที่ระยะเวลา 3 เดือนหรือไม่
3. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีผลข้างเคียงต่ออาสาสมัครในกลุ่มเด็กเล็กหรือไม่

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ต่อระดับเชื้อ mutans streptococci
2. เพื่อศึกษาการคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในช่องปากของเด็กเล็กหลังจากหยุดรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในช่วงระยะเวลา 3 เดือน
3. เพื่อศึกษาผลข้างเคียงจากการดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในเด็กเล็ก

วัตถุประสงค์เฉพาะ

1. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายจากช่องปากเด็กที่ดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 กับนมวัวปกติ
2. เพื่อศึกษาการคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในช่องปากของเด็กเล็กหลังจากหยุดรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 เป็นระยะเวลา 3 เดือน
3. เพื่อประเมินผลข้างเคียงจากการดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในเด็กเล็ก

สมมุติฐานการวิจัย

1. ระดับปริมาณเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายไม่สัมพันธ์กับการได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11
2. การคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ภายหลังจากการหยุดดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในระยะเวลา 3 เดือนไม่แตกต่างกัน
3. การดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ไม่มีผลข้างเคียงต่อเด็กเล็ก

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. นมผงปกติ
2. นมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11
3. ชุดตรวจฟัน ประกอบด้วย probe WHO-621 explorer และ mouth mirror
4. ผ้าก๊อซ (Gauze) ขนาด 2 x 2 นิ้ว ถุงมือ แปรงสีฟัน
5. อุปกรณ์หยิบผ้าก๊อซหรือสำลี (forceps) ไฟฉายส่องปาก
6. หลอดทดลองชนิดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร (centrifuge tube 50 ml.)
7. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline)
8. ไมโครไทเทอร์เพลทชนิด 96 ช่อง (Microtiter plate 98 well)
9. ไมโครปิเปตต์ทิป (micropipette tip)
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis salivarius bacitracin agar (Becton, Dickinson Company (BD), Claix, France) สำหรับเชื้อ mutans streptococci
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Becton, Dickinson Company (BD), Claix, France) สำหรับเชื้อ Lactobacilli
12. ชุดสกัดดีเอนเอ Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan)
13. สารเคมีสำหรับการทำ DNA fingerprinting โดย arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (Biohit proline)
2. ตู้บ่มเชื้อ ขนาด 400 ลิตร (Binder; Scientific promotion Co., LTD, USA)
3. หม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave: Tomy, Tokyo, Japan)
4. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
5. ชุดอุปกรณ์สำหรับการทำ DNA fingerprinting โดย arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

การเตรียมนมผงผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11

การเตรียมนมผงที่ใช้ในงานวิจัยทำการเตรียมโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. **การระบุเชื้อ *L. rhamnosus* SD 11**

L. rhamnosus SD11 เป็นสายพันธุ์ที่แยกมาจากช่องปากเด็กที่ปราศจากฟันผุ ซึ่ง *L. rhamnosus* SD 11 จะถูกระบุสายพันธุ์ โดยใช้วิธีการ Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP) และ sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) จากนั้นนำเชื้อมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำมาใช้

2. การเตรียมนมผงผสมเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11

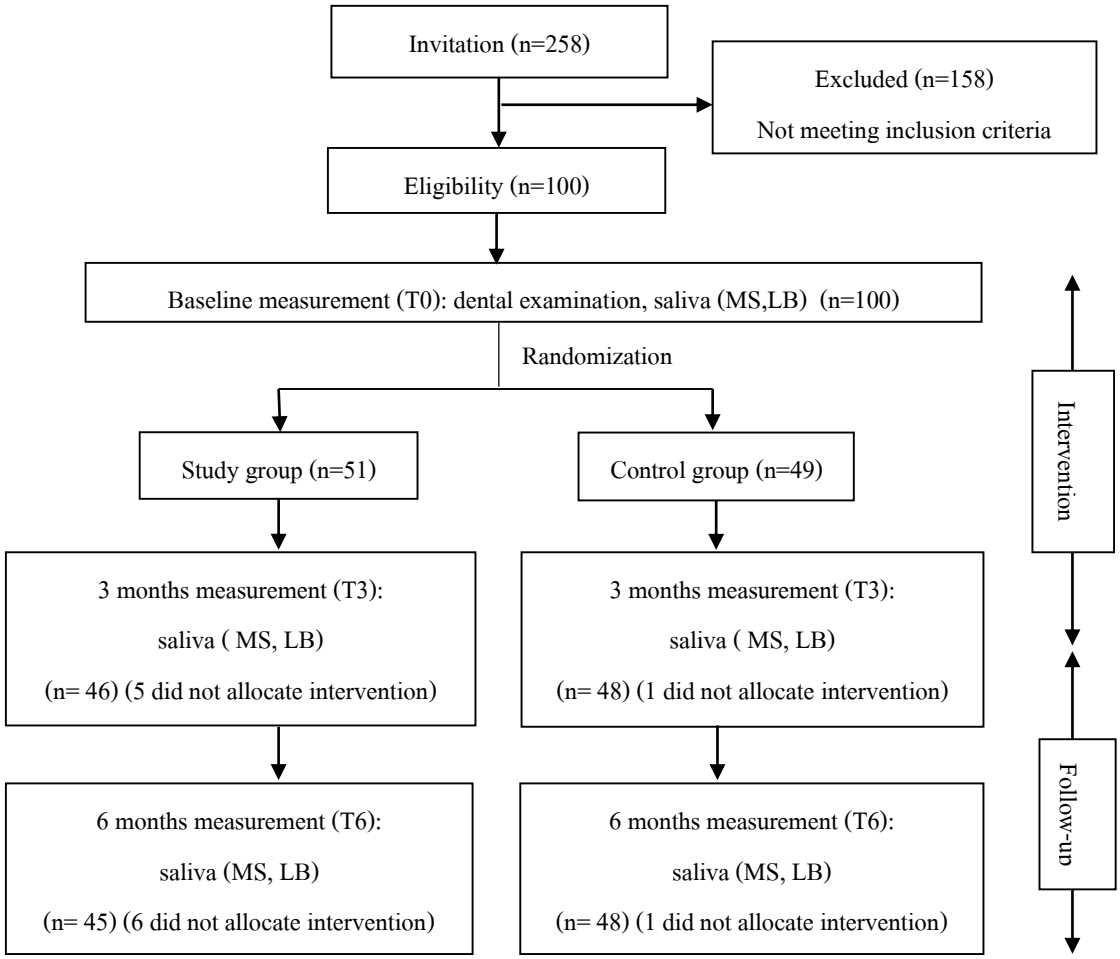
ทำการเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อ โดยเลี้ยงใน MRS broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 g เป็นเวลา 20 นาที และทำการล้างตะกอนเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl 0.85% (W/V) จากนั้นนำตัวเชื้อเปียกที่มีสัดส่วนของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 1% ผสมลงใน 20% skim milk จำนวน 1.8 ลิตร และนำไปเข้าเครื่อง spray dryer โดยมี inlet air ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส และ outlet air ที่อุณหภูมิระหว่าง 80-85 องศาเซลเซียส โดยก่อนนำสารผสมดังกล่าวไปเข้าเครื่อง spray dryer จะมีการตรวจวัดปริมาณของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ก่อน ด้วยวิธี pour plated และนำไปเปรียบเทียบกับหลังการทำ spray dry เพื่อดูการมีชีวิตรอดของเชื้อโพรไบโอติก ก่อนนำไปใช้ในการศึกษาทางคลินิก[49] โดยกำหนดให้นมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 มีปริมาณเชื้อที่มีชีวิต 10^7 CFU/g จำนวน 3 g ซึ่งจำนวนเชื้อที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการทำงานของโพรไบโอติก คือ อย่างน้อย 10^6 CFU/ml

3. การส่งนมและการเก็บรักษานม

การเตรียมบรรจุภัณฑ์และการระบุชื่อเด็กบนซองนมทำโดยการติดชื่อ-นามสกุลของเด็กติดไว้ที่ซองนม เพื่อป้องกันการสลับกันของเด็กแต่ละคน แล้วทำการจัดรวมเป็นถุงใหญ่นับจำนวนให้ครบสำหรับการรับประทานเป็นเวลา 1 เดือน โดยผู้วิจัยจะมีการไปส่งซองนมที่ศูนย์พัฒนาเด็กเล็กเดือนละ 1 ครั้ง พร้อมติดตามผลการดำเนินงาน

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้ได้ออกแบบการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและปกปิดสองทางเทียบกับกลุ่มควบคุม (Double blinded randomized controlled trial study design) โดยมีขั้นตอนการทำงานดังแผนภาพในรูปที่ 1



รูปที่ 2 แสดงแผนภาพขั้นตอนการศึกษา

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่ม โดยที่แต่ละกลุ่มเป็นอิสระต่อกัน ใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$N/group = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)\,(Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

โดยกำหนดค่าต่าง ๆ ดังต่อไปนี้[29]

α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

β = 0.20 (power = 80%)

$\mu_1-\mu_2$ = 1.67 เป็นความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยจำนวนฟันผุที่มีการลุกลามในกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษา

σ_1 = 1.31 เป็นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มศึกษา

σ_2 = 2.65 เป็นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มควบคุม

จากการแทนค่าสูตรดังกล่าวค่าข้างต้นจะได้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 26 คน รวมถึงมีการใช้สถิติ multivariable logistic regression เพื่อหาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง และมีการเพิ่มกลุ่มตัวอย่าง 30% เพื่อสำรองการลดลงของกลุ่มตัวอย่าง ดังนั้นกลุ่มที่จะทำการศึกษา คือ กลุ่มละ 50 คน โดยคัดเลือกจากเด็กเล็กในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในจังหวัดสงขลา ต.บ้านพรุ จ.สงขลา จำนวน 4 ศูนย์

เกณฑ์การคัดเลือกของกลุ่มตัวอย่าง

เกณฑ์การคัดเลือก (Inclusion Criteria)

1. เด็กอายุ 2-5 ปี
2. มีน้ำหนักและส่วนสูงในช่วง +/-1.5 SD ของกราฟแสดงเกณฑ์อ้างอิงการเจริญเติบโต (กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2542)
3. มีสุขภาพดี
4. ผู้ปกครองยินยอมให้เข้าร่วมโครงการ

เกณฑ์การคัดออก (Exclusion Criteria)

1. มีโรคทางระบบเช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน โรคมะเร็ง โรคหัวใจ เป็นต้น
2. เด็กที่ไม่เคยกินนมวัวหรือบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีนมวัวเป็นส่วนประกอบ
3. มีประวัติการแพ้นมวัวและ/หรือน้ำตาลแลคโตส
4. มีประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพมาก่อนเข้าร่วมการศึกษาเป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์
5. เด็กที่รับประทานผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกหรือไซลิทอลเป็นประจำ
6. มีฟันผุเป็นรู (cavitated caries) มากกว่า 5 ซี่
7. มีพฤติกรรมไม่ร่วมมือจนไม่สามารถตรวจฟันได้

การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

เมื่อทำการคัดเลือกเด็กและผู้ปกครองให้ความยินยอมในการเข้าร่วมโครงการ จากนั้นทำการแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ด้วยวิธีการสุ่มแบบบล็อก (Block Randomization) โดยใช้ปริมาณเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น (T0) เป็นตัวกำหนด และกำหนด block size = 4 ซึ่งสามารถคำนวณหาวิธีในการสุ่มได้ทั้งหมด 6 วิธี และผู้ที่ทำการสุ่มตัวอย่างไม่ใช่ผู้วิจัย เพื่อลด selection bias ในการแบ่งเข้ากลุ่ม ซึ่งสามารถแบ่งได้ ดังนี้

1. กลุ่มโพรไบโอติกคือ กลุ่มที่ได้รับนมผงผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11
2. กลุ่มควบคุมคือ กลุ่มที่ได้รับนมผงปกติ (powdered cow milk)

การออกแบบการศึกษา

การศึกษานี้ได้ออกแบบการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและปกปิดสองทาง เทียบกับกลุ่มควบคุม (Double blinded randomized controlled trial study design)

1. กลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมการศึกษาจะไม่ทราบว่าตนเองอยู่กลุ่มใด เนื่องจากลักษณะของนมผงที่ให้เป็นนมผงที่มีลักษณะเดียวกัน ไม่สามารถแยกออกจากกันได้

2. ผู้วิจัยไม่ทราบว่า นมผงที่กลุ่มตัวอย่างได้รับเป็นนมผงกลุ่มใด โดยจะมีผู้ช่วยวิจัยที่จะเตรียมนมผงในซองซิปขนาดเล็กที่ติดลำดับหมายเลขตามเลขที่ได้จากตารางเลขสุ่ม รวมทั้งผู้ตรวจฟันและผู้เก็บตัวอย่างน้ำลายจะไม่ทราบกลุ่มของกลุ่มตัวอย่างเช่นเดียวกัน

ตัวแปรที่ศึกษา

1. **ตัวแปรต้น** คือ การได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11
2. **ตัวแปรตาม** คือ ระดับปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ในน้ำลาย และ การคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปาก

การได้รับนมของผู้เข้าร่วมวิจัย

เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับนมผงที่ทางคณะผู้วิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้ โดยในแต่ละซองจะมีชื่อเด็ก-นามสกุลติดไว้เพื่อป้องกันการสลับกันของเด็กแต่ละคน ซึ่งหลังจากที่เด็กรับประทานนมแล้วจะมีการนำซองนมกลับมาคืนผู้วิจัยโดยครูพี่เลี้ยง เด็กจะรับประทานนมในปริมาณ 3 กรัม/วัน ผสมน้ำประมาณ 50 ซีซี (โดยต้องไม่ใช้น้ำร้อนจัด) และดื่มทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน โดยมีครูพี่เลี้ยงเป็นคนชงให้เด็กที่เข้าร่วมวิจัยรับประทานทุกวันในวันจันทร์-วัน

ศุกร์ และแจกให้ผู้ปกครองชงให้เด็กรับประทานที่บ้านในวันเสาร์-อาทิตย์ และวันหยุด รวมระยะเวลา ทั้งหมด 3 เดือน และทางคณะผู้วิจัยมีการกำหนดให้ครูพี่เลี้ยงรวบรวมเป็นผู้จดบันทึกการรับประทานนมของเด็กทุกคน ทุกวัน ตามแบบบันทึก (ภาคผนวก) ที่ทางผู้วิจัยเตรียมให้ ในส่วนวันที่นำกลับไปรับประทานที่บ้านจะให้ผู้ปกครองมาแจ้งครูพี่เลี้ยงในวันที่มาโรงเรียน รวมทั้งมีการติดตามอาการแพ้หรือผลข้างเคียงจากการรับประทานนมตลอดการศึกษา ซึ่งหากเด็กที่มีอาการแพ้หรืออาการที่สงสัยว่าเกิดจากนมที่ได้รับ ได้แก่ อาการคลื่นไส้ อาเจียน มีน้ำลายมาก ปวดท้อง ท้องเสีย เป็นผื่นแพ้ ครูพี่เลี้ยงและผู้ปกครองสามารถให้เด็กหยุดทานนมได้ทันทีและลงข้อมูลในแบบบันทึกถึงอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้น รวมทั้งแจ้งทีมผู้วิจัยเพื่อตรวจสอบหาสาเหตุและแนวทางการแก้ไขปัญหา

การเก็บข้อมูลและบันทึกผล

หลังจากคัดเลือกเด็กตามเกณฑ์การศึกษาที่ได้กล่าวไปข้างต้นแล้ว จะมีการให้ผู้ปกครองทำแบบสอบถาม (ภาคผนวก) เพื่อทราบข้อมูลทั่วไปของเด็ก เช่น ประวัติทางการแพทย์ ประวัติทางทันตกรรม การรับประทานนม การดูแลทำความสะอาดช่องปาก เป็นต้น และเก็บข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ การตรวจฟัน และการเก็บตัวอย่างน้ำลายที่เวลาเริ่มต้น (T0) ก่อนให้เด็กเริ่มทานนม ซึ่งในการวัดผลการวิจัยจะวัดจากการเก็บตัวอย่างน้ำลาย ที่เวลา T3 และ T6

การตรวจฟัน

การตรวจฟันทำการตรวจด้วยกระจกส่องปาก และ probe WHO-621 ภายใต้แสงจากไฟฉาย โดยตรวจฟันทุกซี่ ทุกด้านในช่องปาก เพื่อประเมินฟันผุเป็นรู (cavitated caries) ที่ถึงระดับชั้นเนื้อฟัน ก่อนเริ่มการศึกษา ซึ่งผู้ตรวจได้รับการปรับมาตรฐานการตรวจโดยผู้เชี่ยวชาญจากภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีค่า kappa เท่ากับ 0.67 และทำการปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจเพื่อทดสอบความเที่ยงในการตรวจฟัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.83 ก่อนเริ่มการศึกษา

การเก็บตัวอย่างน้ำลาย

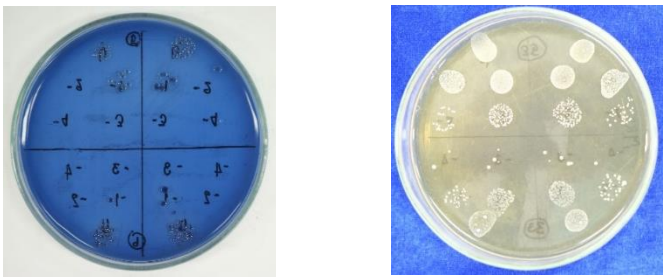
ทันตแพทย์ผู้วิจัยเป็นผู้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายโดยวิธีไม่กระตุ้น โดยให้เด็กบ้วนน้ำลายในภาชนะที่แห้งสะอาดในปริมาณประมาณ 2-5 มิลลิลิตร ใช้เวลาประมาณ 2-3 นาที จากนั้นนำน้ำลายที่ได้ไปเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารต่อไป เพื่อหาเชื้อทั้งหมด 2 เชื้อ ได้แก่ เชื้อ mutans streptococci และเชื้อ Lactobacillus

การเพาะเลี้ยงเชื้อและการนับจำนวนเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจะนำตะกอนที่ได้มาเจือจางด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline) ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 หลังจากนั้นแบ่ง มา 10 µl ในแต่ละอัตราส่วนมาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำการเลี้ยงเชื้อ mutans streptococci บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis salivarius bacitracin agar (Becton, Dickinson Company (BD), Claix, France) ใน candle jar ที่สภาวะ 10% CO2 และ เลี้ยงเชื้อ lactobacilli บนอาหารเลี้ยง de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Becton, Dickinson Company (BD), Claix, France) ในสภาวะ anaerobic conditions (80% N_2 10% CO_2 และ 10% H_2) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (รูปที่ 3)

โคโลนีของเชื้อต่าง ๆในอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกจำแนกตามรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า และนับจำนวนโคโลนีและคำนวณตามอัตราส่วนการเจือจางข้างต้น โดยค่าที่ออกมาจะเป็น colony-forming units (CFU/ml.)

การตรวจนับเชื้อทำโดยผู้ตรวจนับเชื้อ 1 คนที่ได้รับการปรับมาตรฐานผู้ตรวจกับผู้เชี่ยวชาญ ภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีค่า kappa เท่ากับ 0.81 และปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจ เพื่อวัดความเที่ยงโดยการตรวจซ้ำในบุคคลเดียวกัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.87 โดยการปรับมาตรฐานจะมีการทำซ้ำอีกครั้งที่เวลา T3 และ T6



(A) (B)

รูปที่ 3 แสดงโคโลนีของเชื้อ mutans streptococci และ เชื้อ lactobacilli บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
(A) แสดงโคโลนีของเชื้อ mutans streptococci บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis salivarius bacitracin agar
(B) แสดงโคโลนีของเชื้อ lactobacilli บนอ าหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar

การคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11

จำแนกเชื้อ lactobacilli ที่มีลักษณะของโคโลนีจากจานเพาะเลี้ยงเชื้อ MRS agar คล้ายลักษณะโคโลนีของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 โดยดูจากการโตของเชื้อบน MRS agar และรูปร่างของโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำเชื้อที่จำแนกได้มาเพาะเลี้ยงต่อ และนำมาสกัดแยก DNA (DNA extraction) โดยใช้ชุดสกัด Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan) ทำตามคำแนะนำของผู้ผลิตในการสกัด DNA จากแบคทีเรียแกรมบวก จากนั้นนำมาผ่านขั้นตอน arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) ด้วยprimers ERIC1R (5'ATGTAAGCTCC-TGGGGATTCAC-3') และ ERIC2R (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGA GCG-3') ซึ่งจะทำให้ได้ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint pattern) นำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อที่แยกมานำมาเปรียบเทียบกับต้นแบบลายพิมพ์ ดีเอ็นเอของเชื้อ *L. rhamnosus* SD 11

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. สถิติเชิงพรรณนาได้แก่ ลักษณะประชากรของกลุ่มศึกษา และผลข้างเคียงจากการทานนม
2. เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และความแตกต่างของจำนวนซี่ฟันผุระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุม โดยทดสอบ normality test ด้วย Shapiro-Wilk test พบว่า ข้อมูลมีการแจกแจงไม่ปกติ จึงใช้สถิติ Mann-Whitney U-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
3. สถิติ Friedman's test ตามด้วย the post hoc test-Bonferroni correction เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างภายในกลุ่มของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ระหว่างค่าเริ่มต้น (T0) กับ 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6)
4. สถิติ Multivariable logistic regression เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการลดลงของเชื้อ mutans streptococci
5. วิเคราะห์ร้อยละการคงอยู่ของเชื้อ *L. rhamnosus* SD 11 ในกลุ่มตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ

จรรยาบรรณของผู้วิจัยการตรวจสอบจริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้ได้นำเสนอเพื่อการพิจารณาของคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์และผ่านความเห็นชอบเรียบร้อยตามใบรับรองการตรวจสอบจริยธรรม (EC5912-52-L-HR) (ภาคผนวก จ)

บทที่ 3

ผลการวิจัย

จากเด็กทั้งหมด 258 คน สมัครเข้าร่วมและผ่านเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 100 คน โดยแบ่งเป็นกลุ่มโพรไบโอติกจำนวน 51 คน (เพศชาย 24 คน เพศหญิง 27 คน) และกลุ่มควบคุมจำนวน 49 คน (เพศชาย 26 คน เพศหญิง 23 คน) จะเห็นว่า ทั้งสองกลุ่มมีอัตราส่วนเพศชายต่อเพศหญิงใกล้เคียงกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติพบว่า ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) และเมื่อสิ้นสุดการวิจัยพบกลุ่มตัวอย่างออกจากการศึกษาจำนวน 7 คน เนื่องจากลาออกจากศูนย์พัฒนาเด็กเล็ก โดยแบ่งเป็นกลุ่มโพรไบโอติก 6 คน คิดเป็นร้อยละ 12 และกลุ่มควบคุม 1 คน คิดเป็นร้อยละ 2 ดังแสดง (รูปที่ 2) สำหรับค่าเฉลี่ยอายุของกลุ่มตัวอย่างพบว่า ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 3 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนฟันผุเป็นรู ค่ากลางของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) ระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละของเพศ และแสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุของกลุ่มตัวอย่าง โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้น (T0)

	Total **n = 100**	**Probiotic group** **n = 51**	**Control group** **n = 49**	***p*-value**
Gender†:				
- **Male N(%)**	50 (100)	24 (47.06)	26 (53.06)	0.548
- **Female N(%)**	50 (100)	27 (52.94)	23 (46.94)	
Age (months) (mean ± SD)*	40.41 ± 6.67	40.43 ± 6.83	40.39 ± 6.58	0.974

† สถิติการทดสอบ Chi-square test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* สถิติการทดสอบ Independent T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ากลางและ 95% CI ของ ปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และ จำนวนด้านฟันผุ โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้น (T0)

Variables	Probiotic group n = 51		Control group n = 49		*p*-value[€]
	mean ± SD	median (95% CI)	mean ± SD	median (95% CI)	
Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml)	3.47 ± 2.11	4.18 (3.74,4.60)	3.60 ± 1.98	4.20 (3.74,4.64)	0.776
Lactobacilli (log_{10}CFU/ml)	6.61 ± 0.66	6.70 (6.41,6.88)	6.51 ± 0.67	6.45 (6.34,6.64)	0.357
Sound (surfaces)	76.78 ± 8.07	78 (73,82)	76.23 ± 9.92	78.5 (74,82)	0.939
Non-cavitated caries (surfaces)	4.93 ± 4.19	4 (3,6)	6.15 ± 5.45	4.5 (3,7)	0.429
Cavitated caries (surfaces)	3.78 ±3.92	3 (1,5)	4.50 ± 5.19	2.5 (1,5)	0.775
Sound (tooth)	14.07 ± 4.09	14 (12,16)	13.31 ± 5.02	14 (12,16)	0.630
Non-cavitated caries (tooth)	3.18 ± 2.89	3 (1,4)	4.15 ± 3.74	3 (2,5)	0.308
Cavitated caries (tooth)	2.33 ± 2.08	2 (1,4)	2.40 ± 2.46	2 (1,3)	0.897

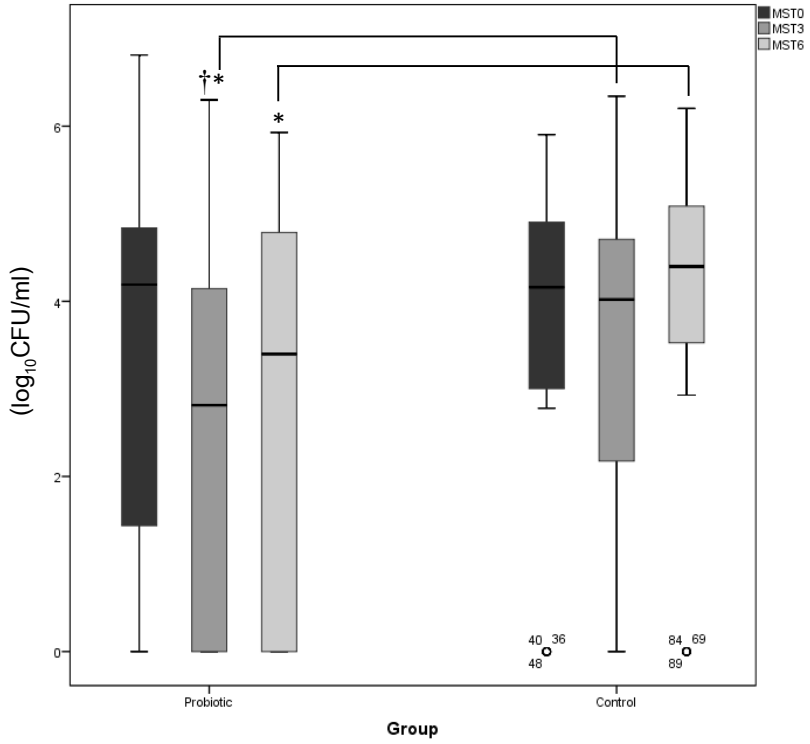
หมายเหตุ: Sound หมายถึง ผิวฟันปกติ คะแนน 0

Non-cavitated caries หมายถึง การรวมฟันผุคะแนน 1 2 3 และ 4

Cavitated caries หมายถึง การรวมฟันผุคะแนน 5 6 และ 7

[€] สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ปริมาณเชื้อ mutans streptococci



รูปที่ 4 แสดงกราฟ box plot ของค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6)

* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย p-value < 0.05 (Significance)

† เปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆ กับที่เวลาเริ่มต้น (T0) ใช้สถิติ Wilcoxon signed rank test–Bonferroni corrections (p-value < 0.017)

จำนวนตัวอย่างของกลุ่มโพรไบโอติก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 46 คน และ เวลา T0 กับ T6 = 45 คน

จำนวนตัวอย่างของกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 48 คน และ เวลา T0 กับ T6 = 48 คน

จากการที่กลุ่มตัวอย่างได้รับประทานนมผงเป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อ mutans streptococci น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา T3 และ T6 และเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆ กับที่เวลาเริ่มต้น (T0) โดยใช้

สถิติ Friedman's test พบว่า ที่เวลา T0 T3 และ T6 ปริมาณเชื้อ mutans streptococci มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อใช้สถิติ Wilcoxan signed rank test with Bonferroni corrections significance level of $\alpha < 0.05/3 = p\text{-value} < 0.017$ พบการลดลงของเชื้อ mutans streptococci อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะที่เวลา T3 (รูปที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3)

Group	**Reduce mutans streptococci count N (%)**	
	Yes	**No**
Probiotic (n=43)	20 (46.5%)	23 (53.5%)
Control (n=47)	14 (29.8%)	33 (70.2%)

สถิติการทดสอบ chi-square test (p-value = 0.102)

ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มีผลต่อการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น (T0) และ 3 เดือน (T3)

Variables	**OR (95%CI)**	***p*-value**
Group		
- **Probiotic**	2.966 (1.02,8.62)	0.046*
- **Control**	Ref	Ref
Level of mutans streptococci at T0†	9.134 (3.35,24.91)	0.000*

* ปัจจัยที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.05

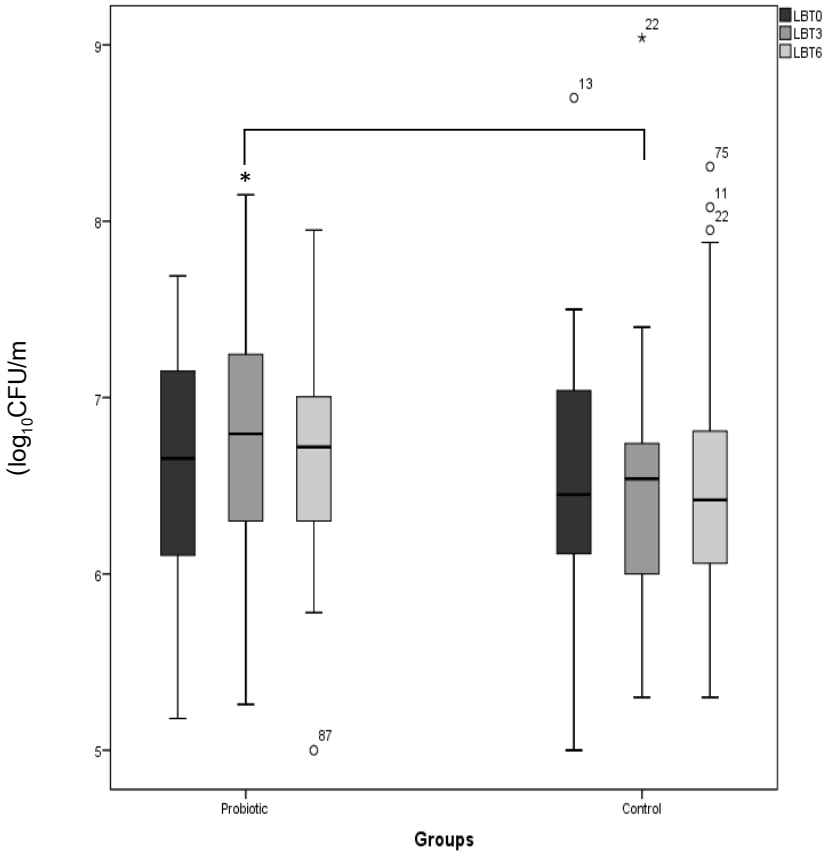
† ระดับของเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น T0 แบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่

- ระดับต่ำ (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 $\log_{10}$CFU/ml)
- ระดับกลาง (ตั้งแต่ 3 ถึง น้อยกว่า 5 $\log_{10}$CFU/ml)
- ระดับสูง (มากกว่าหรือเท่ากับ 5 $\log_{10}$CFU/ml)

Ref คือ กลุ่มอ้างอิง

เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci พบว่า ไม่พบความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.102) (ตารางที่ 4) จากนั้นจึงนำปัจจัยระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น T0 มาทำการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายดังตารางที่ 5 พบว่า ระดับเชื้อ mutans streptococci ในระดับสูงกว่าที่เวลาเริ่มต้น (T0) จะมีโอกาสพบการลดลงของปริมาณเชื้อ mutans streptococci ที่เวลา 3 เดือน (T3) ได้ 9.134 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นในระดับที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยระดับเชื้อ mutans streptococci เริ่มต้นเป็นปัจจัยสำคัญต่อการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ภายหลังจากการได้รับโพรไบโอติก โดยพบว่า เชื้อ mutans streptococci จะลดลงได้ดีเมื่อมีปริมาณเชื้อ mutans streptococci ตั้งต้นอยู่ในระดับกลาง (ตั้งแต่ 3 ถึง น้อยกว่า 5 log10CFU/ml) ดังตารางที่ 8 (ภาคผนวก)

ปริมาณเชื้อ lactobacilli



รูปที่ 5 แสดงกราฟ box plot ของค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6)

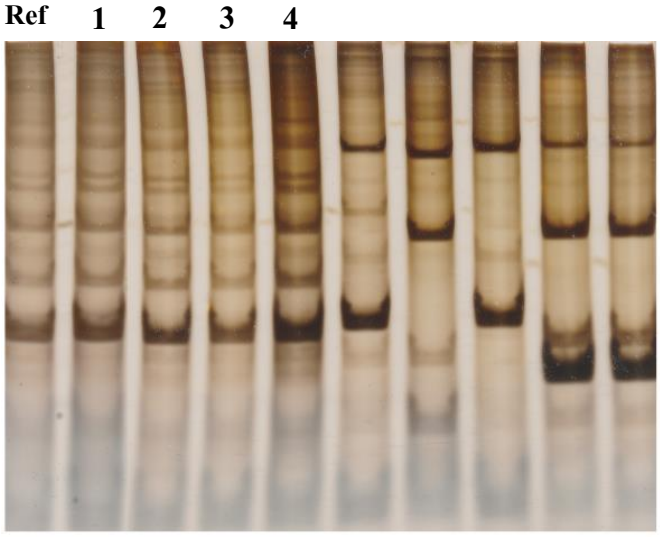
* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย p-value < 0.05 (Significance)

จากการที่กลุ่มตัวอย่างได้รับประทานนมผงเป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 กลุ่ม โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ที่เวลา T3 กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อ lactobacilli มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่เวลา T6 ไม่พบความแตกต่างกันระหว่าง 2 กลุ่ม และเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆ กับที่เวลาเริ่มต้น (T0) พบว่า ปริมาณเชื้อ lactobacilli ไม่มีความแตกต่างทั้งที่เวลา T3 และ T6 (รูปที่ 5)

การคงอยู่ในช่องปากของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11

ผลการคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ในช่องปากกลุ่มตัวอย่าง ตรวจสอบด้วยวิธี arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) โดยทำการค้นหาลักษณะเฉพาะของลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint pattern) จาก genomic DNA ของเชื้อที่ได้มาจากตัวอย่างน้ำลายของกลุ่มตัวอย่างทั้งในกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมที่เวลา T6

ผลการศึกษาพบว่า มีการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 อยู่ในช่องปากเด็กในกลุ่มโพรไบโอติกร้อยละ 11.11 (พบ 5 คน จากทั้งหมด 45 คน) ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่า ไม่พบการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11



รูปที่ 6 แสดงรูปแบบลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint) จากการทำ AP-PCR ที่เวลา 6 เดือน (T6) โดยเลขที่ 1, 2, 3 และ 4 แสดงเชื้อ lactobacilli ที่แยกจากอาสาสมัครจำนวน 9 คน ที่มีลักษณะลายพิมพ์ DNA เหมือนลายพิมพ์ DNA ของเชื้อ *L. rhamnosus* SD 11

บทที่ 4

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของการใช้นมผงที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อการป้องกันโรคฟันผุในกลุ่มเด็กเล็ก ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD 11 ต่อระดับเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลาย และศึกษาผลของการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากเด็กเล็กภายหลังจากการหยุดทานนมเป็นเวลา 3 เดือน รวมทั้งเพื่อประเมินผลข้างเคียงจากการดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในเด็กเล็ก

วัยเด็กเล็กเป็นช่วงวัยที่เชื้อประจำถิ่นในช่องปากยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ ทำให้ในวัยนี้มีโอกาสสร้างเชื้อประจำถิ่นที่ดีขึ้นได้[6] ซึ่งเชื้อโพรไบโอติกเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จากการศึกษาที่ผ่านมาในอดีตพบว่า สามารถลดเชื้อก่อโรคฟันผุได้ดี ดังนั้น การป้องกันโรคฟันผุในเด็กเล็กจึงควรเริ่มตั้งแต่วัยทารกถึงจะมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันโรคฟันผุ แต่ด้วยข้อจำกัดในการจัดการดูแลเด็กวัยนี้ที่จะอาศัยอยู่ที่บ้านเป็นหลัก ดังนั้น ในการศึกษาวิจัยอาจมีการจัดการที่ลำบาก ในส่วนของการเข้าไปจัดการในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กจะสามารถทำการวิจัยได้สะดวกมีประสิทธิภาพ และสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เด็กในวัยนี้จะเป็นช่วงที่มีฟันน้ำนมเริ่มขึ้นครบในช่องปาก ดังนั้น การเลือกใช้โพรไบโอติกในช่วงอายุนี้จึงเป็นช่วงที่เหมาะสมและมีประโยชน์ต่อฟันน้ำนมมากที่สุด

สำหรับการศึกษานี้ เป็นการศึกษา phase 2 ตาม guidelines การประเมินโพรไบโอติกเพื่อใช้เป็นอาหารของ FAO/WHO ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ Double blind, randomized, placebo-controlled (DBPC)[8] โดยจากการศึกษาก่อนหน้าได้ทำการศึกษาในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 21-23 ปี ในระยะสั้น 4 สัปดาห์ (phase 1) พบว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยกับกลุ่มอาสาสมัคร ดังนั้นสำหรับการศึกษานี้ซึ่งเป็นการศึกษาใน phase ถัดไป ที่ทำการศึกษาในกลุ่มเด็กเล็กเป็นครั้งแรก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 และความปลอดภัยในกลุ่มเด็กเล็กในระยะสั้น ก่อนที่จะทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีจำนวนมากขึ้นและใช้ระยะเวลานานขึ้น

ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมีหลากหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีนมเป็นส่วนประกอบได้แก่ นม โยเกิร์ต ชีส เป็นต้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีส่วนประกอบเช่น

casein calcium และ phosphorous ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และต่อต้านการเกิดฟันผุ[50] ด้วยคุณประโยชน์ที่ได้กล่าวมา ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นนมผงเพื่อประโยชน์ต่อร่างกาย และ เพื่อให้เหมาะสมกับเด็กวัยนี้ที่รับประทานนมเป็นประจำ ซึ่งจะส่งผลให้เด็กให้ความร่วมมือดีในงานวิจัย

เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ ค่าเฉลี่ยเพศ อายุ จำนวนฟันผุที่เป็นรู และค่ากลางของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ในช่องปากของกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มที่เวลาเริ่มต้น (T0) พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึง ก่อนเริ่มการศึกษากลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มมีลักษณะทางกายภาพ จำนวนฟันผุที่เป็นรู และปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ในช่องปากที่ไม่แตกต่างกัน

จากการที่กลุ่มตัวอย่างได้รับประทานนมผงเป็นระยะเวลา 3 เดือน (T3) และมีการติดตามหลังหยุดรับประทานเป็นระยะเวลา 3 เดือน (T6) พบว่า กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อ mutans streptococci น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา T3 และ T6 และเมื่อมีการเปรียบเทียบภายในกลุ่มโพรไบโอติก พบว่า ที่เวลา T3 ปริมาณเชื้อ mutans streptococci ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเริ่มต้น (T0) จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 สามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ได้ในขณะที่มีการได้รับนมโพรไบโอติก และหลังหยุดรับประทานนมโพรไบโอติกมาแล้วเป็นเวลา 3 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rungsri P และคณะในปี 2017[32] ที่ทำการศึกษาโดยให้กลุ่มอาสาสมัครอายุ 21-23 ปี รับประทานโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และมีการติดตามหลังหยุดทานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า โพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 สามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากทั้ง 2 การศึกษาทำให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 สามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ได้ทั้ง 2 กลุ่มอายุ และยังสามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ได้อย่างต่อเนื่องนาน 3 เดือนหลังหยุดรับประทานนมโพรไบโอติก นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Nase และ คณะ ในปี 2001[15] ที่ทำการศึกษาผลของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus GG* ต่อการป้องกันฟันผุ ในเด็กอายุ 1-6 ปี โดยการให้กลุ่มตัวอย่างรับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus GG* เป็นระยะเวลา 7 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus GG* มีการลดลงของจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์ และสามารถลดการเกิดโรคฟันผุได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Siddiqui และคณะ ในปี 2016[16] ที่ทำการศึกษา ใน

เด็กอายุ 6-9 ปี โดยให้เด็กดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. casei Shirota* เป็นเวลา 7 วัน แล้วทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า กลุ่มเด็กที่ดื่มนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. casei Shirota* มีการลดลงของจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) จากผลการศึกษานี้พบว่า โพรไบโอติกสามารถลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ได้แม้ได้รับเพียงระยะสั้น แต่อย่างไรก็ตามทั้ง 2 การศึกษา ไม่ได้มีการศึกษาผลในการลดเชื้อ mutans streptococci หลังหยุดรับประทานผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก

จากการนำผลการลดลงของเชื้อ mutans streptococci มาวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้าย ทำให้เห็นว่า เชื้อ mutans streptococci ตั้งต้นมีผลต่อการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ในช่องปาก โดยจะเห็นผลชัดเจนเมื่อมีระดับเชื้อ mutans streptococci ในระดับปานกลางคือ 3 ถึง น้อยกว่า 5 $\log_{10}$CFU/ml ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า โพรไบโอ-ติก *L. rhamnosus* SD11 จะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ mutans streptococci ได้ดีในกลุ่มเด็กที่มีเชื้อ mutans streptococci ตั้งต้นในระดับกลาง

จากผลการศึกษาของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 อาจกล่าวได้ว่า เกิดจากกลไกการทำงานของโพรไบโอติกที่สามารถลดการยึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรคฟันผุได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลทางห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อ *L. rhamnosus* สามารถยับยั้ง *S. mutans* ATCC 25175 ได้ดี[30] สามารถผลิตสาร bacteriocin ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากได้ โดยมีน้ำหนักโมเลกุล (molecular mass) เท่ากับ 30,000 ดัลตัน[51] และสามารถยึดติด (adhesion) กับ oral mucosa และมีการยึดเกาะกับเชื้อแบคทีเรียตัวอื่น ๆ (aggregation) ได้ดี[31]

จากผลการศึกษาการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกในช่องปากที่ผ่านมาพบว่า เชื้อโพรไบโอติกมีการคงอยู่เพียงชั่วคราว[23, 24] สำหรับการศึกษานี้พบว่า มีการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากเด็กร้อยละ 11.11 ภายหลังจากการหยุดรับประทานนมโพรไบโอติกเป็นเวลา 3 เดือน จากผลการศึกษาพบว่า แม้ว่าการศึกษานี้จะพบการคงอยู่น้อยกว่าการศึกษาก่อนหน้าที่พบการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มากกว่าร้อยละ 80 ภายหลังจากหยุดรับประทานโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกนาน 1 เดือน[32] แต่การศึกษานี้มีการติดตามการคงอยู่ของโพรไบโอติกในระยะเวลาที่นานมากขึ้นคือ 3 เดือน แสดงให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีการคงอยู่ในช่องปากได้นานขึ้น อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในการยึดเกาะกับเยื่อบุผิวในช่องปากได้ดี และเชื้อประจำถิ่นในช่องปากเด็กยังสร้างไม่สมบูรณ์ เชื้อโพรไบโอติกจึงมีโอกาสในการเป็นส่วนหนึ่งของเชื้อประจำถิ่นในช่องปากได้ แต่อย่างไรก็ตามด้วย

กระบวนการในการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการในขั้นตอน APPCR ที่ต้องอาศัยความชำนาญในการปฏิบัติงานจึงอาจทำให้ได้ผลการตรวจสอบที่ไม่แน่ชัดในกลุ่มตัวอย่างที่ตรวจไม่พบ DNA ของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11

จากการบันทึกการดื่มนมและผลข้างเคียงจากการดื่มนมของกลุ่มตัวอย่างตลอดการศึกษา พบว่า ได้รับความร่วมมือในการรับประทานนมของทั้ง 2 กลุ่มอยู่ในระดับที่ดี เนื่องจากการศึกษานี้เลือกทำการศึกษาในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กที่มีคุณครูดูแลใกล้ชิด โดยกลุ่มตัวอย่างทุกคนรับประทานนมมากกว่าร้อยละ 80 ของนมทั้งหมดที่ผู้วิจัยกำหนดให้เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยสาเหตุส่วนใหญ่ที่กลุ่มตัวอย่างไม่ได้รับประทานนมเกิดจากการขาดโรงเรียน นอกจากนี้ยังพบว่าไม่พบผลข้างเคียงหรือภาวะแทรกซ้อนใดๆ จากการรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 กับกลุ่มตัวอย่างตลอดการศึกษา เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rungsri P และคณะในปี 2017[32] ที่มีการนำเชื้อดังกล่าวมาศึกษาและไม่พบผลข้างเคียงใดๆ กับกลุ่มอาสาสมัคร

บทที่ 5

บทสรุป และข้อเสนอแนะ

บทสรุป

1. การได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 เดือน สามารถลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากเด็กเล็กได้
2. พบการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากเด็กเล็กร้อยละ 11.11 ภายหลังจากหยุดรับประทานโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เป็นเวลา 3 เดือน
3. ไม่พบผลข้างเคียงใดๆ จากการได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในกลุ่มเด็กเล็กตลอดการศึกษา

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

จากผลการศึกษานี้ทำให้เห็นว่า เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อก่อโรคฟันผุและมีความปลอดภัยในกลุ่มเด็กเล็ก ดังนั้นในการศึกษาถัดไปอาจทำการศึกษาที่นานขึ้น (long term study) หรือในกลุ่มตัวอย่างที่มีจำนวนมากขึ้น เพื่อดูประสิทธิภาพและความปลอดภัยในระยะยาว นอกจากนี้เพื่อให้เห็นการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ที่แน่ชัด ผู้วิจัยควรได้รับการฝึกปฏิบัติเพื่อให้เกิดความชำนาญในขั้นตอนการค้นหาลักษณะเฉพาะของลายพิมพ์ DNA ด้วยวิธี APPCR

บรรณานุกรม

1. สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย; 2551. รายงานผลการสำรวจ สภาวะสุขภาพช่องปาก ระดับประเทศ ครั้งที่ 6 ประเทศไทย พ.ศ. 2550
2. Firmino RT, Gomes MC, Clementino MA, Martins CC, Paiva SM, Granville-Garcia AF. Impact of oral health problems on the quality of life of preschool children: a case-control study. ***Int J Paediatr Dent*** 2016; 26(4): 242-9.
3. Martins-Júnior P, Vieira-Andrade R, Corrêa-Faria P, Oliveira-Ferreira F, Marques L, Ramos-Jorge M. Impact of early childhood caries on the oral health-related quality of life of preschool children and their parents. ***Caries Res*** 2013; 47(3): 211-8.
4. Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Silva CMSE, Rodrigues LKA, Nobre-dos-Santos M. Early childhood caries and mutans streptococci: a systematic review. ***Oral Health Prev Dent*** 2010; 8(1): 59-70.
5. Teanpaisan R, Thitasomakul S, Piwat S, Thearmontree A, Pithpornchaiyakul W, Chankanka O. Longitudinal study of the presence of mutans streptococci and lactobacilli in relation to dental caries development in 3-24 month old Thai children. ***Int Dent J*** 2007; 57(6): 445-51.
6. Marsh PD. Role of the oral microflora in health. ***Microb Ecol Health Dis*** 2000; 12(3): 130-7.
7. De Vrese M, Marteau PR. Probiotics and Prebiotics: Effects on Diarrhea. ***J Nutr*** 2007; 137(3): 803S-11S.
8. Food and Health Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002.
9. Daliri EB-M, Lee BH. New perspectives on probiotics in health and disease. ***Food Science and Human Wellness*** 2015; 4(2): 56-65.
10. Shi LH, Balakrishnan K, Thiagarajah K, Mohd Ismail NI, Yin OS. Beneficial Properties of Probiotics. ***Trop Life Sci Res*** 2016; 27(2): 73-90.
11. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. ***Periodontolo 2000*** 2008; 48: 111-47.
12. Haukioja A. Probiotics and Oral Health. ***Eur J Dent*** 2010; 4(3): 348-55.
13. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? ***Eur J Oral Sci*** 2005; 113(3): 188-96.

14. Cagetti GM, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. ***Nutrients*** 2013; 5(7): 2530-50.
15. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. ***Caries Res*** 2001; 35(6): 412-20.
16. Siddiqui M, Singh C, Masih U, Chaudhry K, Deepa Hegde Y, Gojanur S. Evaluation of streptococcus mutans levels in saliva before and after consumption of pobiotic milk: a clinical study. ***J Int Oral Health*** 2016; 8(2): 195.
17. Rodriguez G, Ruiz B, Faleiros S, Vistoso A, Marro ML, Sanchez J, et al. Probiotic compared with standard milk for high-caries children: a cluster randomized trial. ***J Dent Res*** 2016; 95(4): 402-7.
18. Campus G, Cocco F, Carta G, Cagetti MG, Simark-Mattson C, Strohmenger L, et al. Effect of a daily dose of Lactobacillus brevis CD2 lozenges in high caries risk schoolchildren. ***Clin Oral Investig*** 2014; 18(2): 555-61.
19. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial. ***BMC Oral Health*** 2015; 15: 112.
20. Jindal G, Pandey RK, Singh RK, Pandey N. Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective. ***J Oral Biol Craniofac Res*** 2012; 2(2): 110-5.
21. Stecksen-Blicks C, Sjostrom I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. ***Caries Res*** 2009; 43(5): 374-81.
22. Stensson M, Koch G, Coric S, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Birkhed D, et al. Oral administration of lactobacillus reuteri during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. ***Caries Res*** 2014; 48(2): 111-7.
23. Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by lactobacillus reuteri ATCC 55730 after exposure to probiotics. ***Int J Paediatr Dent*** 2009; 19(5): 377-81.
24. Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. ***Oral Microbiol Immunol*** 2006; 21(2): 129-31.

25. Piwat S, Teanpaisan R, Thitasomakul S, Thearmontree A, Dahlen G. Lactobacillus species and genotypes associated with dental caries in Thai preschool children. ***Mol Oral Microbiol*** 2010; 25(2): 157-64.
26. Ritthagol W, Saetang C, Teanpaisan R. Effect of probiotics containing *lactobacillus paracasei* SD1 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in orthodontic cleft patients: a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. ***Cleft Palate Craniofac J*** 2014; 51(3): 257-63.
27. Teanpaisan R, Piwat S. *Lactobacillus paracasei* SD1, a novel probiotic, reduces mutans streptococci in human volunteers: a randomized placebo-controlled trial. ***Clin Oral Investig*** 2014; 18(3): 857-62.
28. Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of long-term consumption of *lactobacillus paracasei* SD1 on reducing mutans streptococci and caries risk: a randomized placebo-controlled trial. ***Dent J*** 2015; 3(2): 43-54.
29. Pahumunto N, Piwat S, Chankanka O, Akkarachaneeyakorn N, Rangsitsathian K, Teanpaisan R. Reducing mutans streptococci and caries development by *Lactobacillus paracasei* SD1 in preschool children: a randomized placebo-controlled trial. ***Acta Odontol Scand*** 2018; 76(5): 331-7.
30. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlen G. Inhibitory effect of oral lactobacillus against oral pathogens. ***Lett Applied Microbiol*** 2011; 53(4): 452-9.
31. Piwat S, Sophatha B, Teanpaisan R. An assessment of adhesion, aggregation and surface charges of lactobacillus strains derived from the human oral cavity. ***Lett Appl Microbiol*** 2015; 61(1): 98-105.
32. Rungsri P, Akkarachaneeyakorn N, Wongsuwanlert M, Piwat S, Nantarakchaikul P, Teanpaisan R. Effect of fermented milk containing *Lactobacillus rhamnosus* SD11 on oral microbiota of healthy volunteers: a randomized clinical trial. ***J Dairy Sci*** 2017; 100(10): 7780-7.
33. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on early childhood caries (ECC): classifications, consequences, and preventive strategies. ***Pediatr Dent*** 2008-2009; 30(7 Suppl): 40-3.

34. Teanpaisan R, Thitasomakul S, Piwat S, Thearmontree A, Pithpornchaiyakul W, Chankanka O. Longitudinal study of the presence of mutans streptococci and lactobacilli in relation to dental caries development in 3-24 month old Thai children. ***Int Dent J*** 2007; 57(6): 445-51.
35. Lueangpiansamut J, Chatrchaiwiwatana S, Muktabhant B, Inthalohit W. Relationship between dental caries status, nutritional status, snack foods, and sugar-sweetened beverages consumption among primary schoolchildren grade 4-6 in Nongbua Khamsaen school, Na Klang district, Nongbua Lampoo Province, Thailand. ***J Med Assoc Thai*** 2012; 95(8): 1090-7.
36. Nanda J, Sachdev V, Sandhu M, Deep-Singh-Nanda K. Correlation between dental caries experience and mutans streptococci counts using saliva and plaque as microbial risk indicators in 3-8 year old children. a cross sectional study. ***J Clin Exp Dent*** 2015; 7(1): e114-e8.
37. Fragkou S, Balasouli C, Tsuzukibashi O, Argyropoulou A, Menexes G, Kotsanos N, et al. Streptococcus mutans, streptococcus sobrinus and candida albicans in oral samples from caries-free and caries-active children. ***Eur Arch Paediatr Dent*** 2016; 17(5): 367-75.
38. Neves BG, Stipp RN, da Silva Bezerra D, de Figueiredo Guedes SF, Rodrigues LK. Molecular detection of bacteria associated to caries activity in dentinal lesions. ***Clin Oral Investig*** 2016.
39. Sicca C, Bobbio E, Quartuccio N, Nicolo G, Cistaro A. Prevention of dental caries: a review of effective treatments. ***J Clin Exp Dent*** 2016; 8(5): e604-e10.
40. Juneja A, Kakade A. Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary mutans streptococci levels. ***J Clin Pediatr Dent*** 2012; 37(1): 9-14.
41. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. ***Ann Nutr Metab*** 2012; 61(2): 160-74.
42. Zambori C CC, Mot D, Hutu I, Gurban C, Tirziu E. The antimicrobial role of probiotics in the oral cavity in humans and dogs. ***Anim Sci Biotechnol*** 2014; 47: 126-30.
43. Laleman I, Detailleur V, Slot DE, Slomka V, Quirynen M, Teughels W. Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: a systematic review and meta-analysis. ***Clin Oral Investig*** 2014; 18(6): 1539-52.
44. Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S, Vistoso A, Marró M, Sánchez J, et al. Probiotic compared with standard milk for high-caries children: a cluster randomized trial. ***J Dent Res*** 2016; 95(4): 402-7.

45. Doron S, Snydman DR. Risk and safety of probiotics. ***Clin Infect Dis*** 2015; 60 Suppl 2: S129-34.

46. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. ***Clin Infect Dis*** 2003; 36(6): 775-80.

47. Floch MH. Probiotic safety and risk factors. ***J Clin Gastroenterol*** 2013; 47(5): 375-6.

48. รวี เถียรไพศาล. แบคทีเรียและโรคติดเชื้อที่พบบ่อยในช่องปาก. 1. สงขลา: คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2552.

49. Teanpaisan R, Chooruk A, Wannun A, Wichienchot S, Piwat, S. Survival rates of human-derived probiotic Lactobacillus paracasei SD1 in milk powder using spray drying. ***Songklanakarin J Sci Tech*** 2012; 34(3): 241-5.

50. Jain P, Sharma P. Probiotics and their efficacy in improving oral health: a review. ***J Appl Pharm Sci*** 2012; 2(11): 151-63.

51. Wannun P, Piwat S, Teanpaisan R. Purification, characterization, and optimum conditions of fermencin SD11, a bacteriocin produced by human orally *Lactobacillus fermentum* SD11. ***Appl Biochem Biotechnol*** 2016; 179(4): 572-82.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกการตรวจฟัน

โครงการใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 เพื่อป้องกันฟันผุในเด็กเล็ก

ศูนย์ที่..... ชั้นปฐมวัย.....

ชื่อ-นามสกุล .....ID.....

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง **อายุ**.....ปี

Tooth	Status	O	M	D	B	Li	Tooth	Status	O	M	D	B	Li
51							61						
52							62						
53							63						
54							64						
55							65						
Tooth	**Status**	**O**	**M**	**D**	**B**	**Li**	**Tooth**	**Status**	**O**	**M**	**D**	**B**	**Li**
81							71						
82							72						
83							73						
84							74						
85							75						

หมายเหตุ .....

.....

Saliva collection

☐ **Yes** ☐ **No**

ภาคผนวก ข

แบบบันทึกการดื่มนมโครงการและประวัติการเจ็บป่วยในระหว่างร่วมโครงการ

เดือน.....

ชื่อ .....นามสกุล.....ID .....

วันที่	การบริโภคนม		ขาดโรงเรียน	อาการผลข้างเคียง					ได้รับยาปฏิชีวนะ
	ได้รับ	ไม่ได้รับ		คลื่นไส้	อาเจียน	ปวดท้อง	ท้องเสีย	อื่นๆ (โปรดระบุ)	
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									

ภาคผนวก ค

ใบเชิญชวน

ขอเชิญเข้าร่วมโครงการวิจัยเรื่อง การใช้นมผงผสมโพรไบโอติกแลกโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดีสิบเอ็ดเพื่อป้องกันฟันผุในเด็กเล็ก

เรียน ผู้ปกครองที่นับถือ

ข้าพเจ้า ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาลและคณะวิจัย เป็นอาจารย์ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้ขอความร่วมมือจากทางศูนย์เด็กเล็ก อบต. บ้านพรุในการทำวิจัยเรื่องดังปรากฏข้างต้น คณะวิจัยจึงขอเรียนรายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัยและขอเชิญชวนเข้าร่วมในโครงการวิจัยดังนี้

เนื่องจากโรคฟันผุเป็นโรคที่มีความชุกสูงในประเทศไทย โดยปัญหาฟันผุหากไม่ได้รับการรักษาจะเกิดการลุกลามของรอยโรคฟันผุอย่างรวดเร็วจนถึงโพรงประสาทฟันซึ่งก่อให้เกิดความเจ็บปวด การติดเชื้อ ส่งผลให้เกิดการสูญเสียฟัน และส่งผลให้เกิดปัญหาด้านการบดเคี้ยวในระยะเวลาต่อมา โดยสาเหตุหนึ่งของโรคฟันผุคือ เชื้อแบคทีเรียก่อโรค จึงมีการวิจัยเพื่อหาวิธียับยั้งปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคฟันผุ

โพรไบโอติกคือ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และเมื่อได้รับในปริมาณเหมาะสมจะเป็นประโยชน์สำหรับสุขภาพ กลไกของโพรไบโอติกที่มีผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพในช่องปากคือ 1) ลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคโดยแย่งอาหารในการเจริญเติบโต 2) แข่งขันเพื่อพื้นที่สำหรับการเกาะติด 3) สร้างสารที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค 4) เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะที่และทั้งระบบ

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์แลคโตแบซิลลัส แรมโนซัสเอสดี 11 มีข้อดีหลายประการคือ 1) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคฟันผุ 2) สร้างกรดน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ 3) สามารถเกาะติดเยื่อบุผิวในช่องปากได้ดี 4) สร้างสารที่ยับยั้งการเติบโตต่อเชื้อก่อโรคฟันผุ จึงอาจกล่าวได้ว่าเชื้อแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะในการใช้เป็นโพรไบโอติกในการป้องกันฟันผุ

หากการศึกษานี้พบว่า แลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคฟันผุได้ ในอนาคตอาจใช้วิธีการนี้เพื่อลดปริมาณเชื้อก่อโรคฟันผุ ซึ่งอาจจะมีผลในการป้องกันฟันผุในเด็กทั่วไป

ในการศึกษานี้รับอาสาสมัครอายุ 1-3 ปี จำนวน 100 คน ไม่มีโรคประจำตัวที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันและเด็กที่มีโอกาสต้องได้รับยาปฏิชีวนะเป็นประจำเช่น โรคมะเร็ง เบาหวาน หัวใจและระบบไหลเวียนโลหิต โรคระบบทางเดินอาหาร โรคไต โรคตับ ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง รวมทั้งผู้ที่ได้รับการเปลี่ยนอวัยวะ และผู้ที่เพิ่งได้รับการผ่าตัด เป็นต้น ไม่แพ้นมวัว เคยได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของนมวัว ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนการเข้าร่วมโครงการ ไม่รับประทานผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกหรือไซลิทอลเป็นประจำ และการตรวจภายในช่องปากทางคลินิกมีจำนวนฟันผุไม่มากกว่า 3 ซี่

หากผู้ปกครองอนุญาตให้เด็กในปกครองของท่านร่วมโครงการนี้ จะมีขั้นตอนของการศึกษาที่เกี่ยวข้องคือ เด็กจะได้รับการสุ่มให้เข้ากลุ่มการศึกษากลุ่มใดกลุ่มหนึ่งใน 2 กลุ่มนี้ ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุมที่ได้รับนมผงไม่มีโพรไบโอติก และ 2) กลุ่มศึกษาที่ได้รับนมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 โดยผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้ผลิตภัณฑ์นมผงที่ทางคณะวิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้ (นม 3 กรัม) วันละ 1 ครั้ง จากครูพี่เลี้ยง เป็นระยะเวลา 3 เดือน หากในช่วงวันหยุดผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับผลิตภัณฑ์ไปบริโภคที่บ้าน โดยให้ผสมนมผงในน้ำอุ่นประมาณ 50 ซีซี (1/2 แก้วน้ำดื่ม)

ผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับการตรวจสภาวะในช่องปากคือ การตรวจฟันผุ และเก็บตัวอย่างน้ำลาย ซึ่งกิจกรรมทั้งหมดจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที กิจกรรมดังกล่าวจะดำเนินการ 3 ครั้ง คือเริ่มต้นก่อนได้รับนมผง เดือนที่ 3 และเดือนที่ 6 ของโครงการ ระหว่างการวิจัยจะมีการสอบถามถึงอาการหรือผลข้างเคียงจากการได้รับนมผง

จากการทบทวนวรรณกรรมถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ จากการได้รับจุลินทรีย์โพรไบโอติก ไม่พบว่ามีอันตรายหรือผลข้างเคียงใดๆ เกิดขึ้น จากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกในคนทั่วไป อย่างไรก็ตามมีรายงานการติดเชื้อเกิดขึ้นในผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบและผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องเท่านั้น โดยพบอัตราการติดเชื้อต่ำมากคิดเป็น 4 คนใน 1,000 คน ถึง 5 คนใน 10,000 คน และจากการวิจัยที่ผ่านมาของคณะวิจัยในการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก ยังไม่พบผลข้างเคียงใดๆ

อย่างไรก็ตามหากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมีอาการแพ้หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจากโครงการนี้ ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย เป็นผื่นแพ้ หายใจครืดคราด ให้แจ้งแก่ทางทีมผู้วิจัยทราบโดยทันทีตลอด 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทางทีมผู้วิจัยได้ตรวจสอบและทำการแก้ไขปัญหาได้ หากอาสาสมัครต้องการติดต่อผู้วิจัย สามารถติดต่อได้ที่ ศาสตราจารย์ ดร. รวีเถียร ไพศาล เบอร์โทร 0864834619 หรือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิง สุพัชรินทร์

พิวัฒน์ เบอร์โทร 0897374488 หรือสามารถร้องเรียนมาได้ที่ หน่วยส่งเสริมและพัฒนางานวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ เบอร์โทร 074-287504, 074-287533

ในโครงการนี้หากอาสาสมัครไม่เข้าร่วมจะไม่มีผลกระทบต่อการดูแลสุขภาพของเด็กแต่อย่างใด หรือหากอาสาสมัครได้รับผลเสียหายหรืออันตรายใดๆ ที่เป็นผลที่เกิดจากการวิจัยนี้ ทางคณะวิจัยจะรับผิดชอบค่ารักษาทั้งหมดตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ และถ้าอาสาสมัครต้องการที่จะถอนตัวออกจากการวิจัยนี้เมื่อใด ก็สามารถกระทำได้อย่างอิสระ คณะผู้วิจัยจะดำเนินการศึกษาตามรายละเอียดที่ระบุไว้อย่างเคร่งครัด หากมีการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับอาสาสมัคร ผู้วิจัยจะแจ้งให้ผู้ปกครองทราบโดยเร็ว หากมีคำถามใดๆ ก่อนที่จะตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ ท่านสามารถซักถามคณะผู้วิจัยได้อย่างเต็มที่

ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาล

หัวหน้าโครงการ

เบอร์โทร 0864834619 E-mail: rawee.t@psu.ac.th

หมายเหตุ :- กรุณาอ่านข้อความให้เข้าใจก่อนเซ็นชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการ

ภาคผนวก ง

แบบยินยอมเข้าร่วมศึกษา

โครงการวิจัยเรื่อง การใช้นมผงผสมโพรไบโอติกแลกโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดีสิบเอ็ด เพื่อป้องกันฟันผุในเด็กเล็ก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า.....ผู้ปกครองของ ด.ช./ด.ญ.....อายุ.....ปี อาศัยอยู่บ้านเลขที่.....หมู่..... ตำบล.....อำเภอ.....จังหวัด.....

ได้อ่าน/ได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว

หากผู้อยู่ในปกครองของข้าพเจ้าได้รับผลข้างเคียงที่พิสูจน์ได้ว่ามาจากการวิจัย ข้าพเจ้าจะได้รับการปฏิบัติ/การชดเชย ดังนี้ คือ ได้รับการดูแลและรักษาพร้อมทั้งค่ารักษาตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โดยผู้รับผิดชอบโครงการวิจัยนี้คือ ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาล เบอร์โทร 0864834619 หรือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิง สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ เบอร์โทร 0897374488 หรือเมื่อมีปัญหาใดๆ เกิดขึ้นเนื่องจาก การทำการวิจัยในเรื่องนี้ ข้าพเจ้าสามารถร้องเรียนไปที่คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112 โทรศัพท์ 074-28-7500

หากผู้วิจัยมีข้อมูลเพิ่มเติมทั้งด้านประโยชน์และโทษที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะแจ้งให้ข้าพเจ้าทราบอย่างรวดเร็ว โดยไม่ปิดบัง

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะของดการเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยมิต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า โดยการงดการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบต่อการได้รับบริการหรือการรักษาที่ข้าพเจ้าจะได้รับแต่ประการใด

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวกับตัวผู้อยู่ในปกครองของข้าพเจ้าเป็นความลับ จะไม่เปิดเผยข้อมูลหรือผลการวิจัยเป็นรายบุคคลต่อสาธารณชน จะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย หรือการเปิดเผยข้อมูลต่อผู้มีหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการสนับสนุนและกำกับดูแลการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่าน/ได้รับการอธิบายข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ จึงได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ โดยนักวิจัยได้ให้สำเนาแบบยินยอมที่ลงนามแล้วกับข้าพเจ้าเพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐาน จำนวน 1 ชุด

ลงชื่อ……..……บิดา/มารดา/ผู้ปกครอง

ลงชื่อ……..หัวหน้าโครงการ

ลงชื่อ……..พยาน

ลงชื่อ……..พยาน

ภาคผนวก จ

หนังสือรับรองผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย

ที่ ศธ 0521.1.03/ **212**

คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
15 ถนนกาญจนวณิชย์
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

หนังสือฉบับนี้ให้ไว้เพื่อรับรองว่า

โครงการวิจัยเรื่อง การใช้นมผงผสมโพรไบโอติกแลกโตแบซิลลัสเฟอร์เมนตุมเอสตีสิบเอ็ดเพื่อป้องกันฟันผุในเด็กเล็ก

รหัสโครงการ EC5912-52-L-HR

หัวหน้าโครงการ ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล

สังกัดหน่วยงาน ภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้ผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย (Research Ethics Committee) ซึ่งเป็นคณะกรรมการพิจารณาศึกษาการวิจัยในคนของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines และ the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

ในคราวประชุมครั้งที่ 12/2559 **เมื่อวันที่** 15 ธันวาคม 2559

ให้ไว้ ณ วันที่ **3 มีนาคม 2560**

(รองศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.ศรีสุรางค์ สุทธปรียาศรี)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย

.....กรรมการ	.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพ.นพ.สุรพงษ์ วงศ์วัชรานนท์)	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วศิน สุวรรณรัตน์)
.....กรรมการ	.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นพ.พรชัย สถิรปัญญา)	(อาจารย์ ทพ.กมลพันธ์ เนื่องศรี)
.....กรรมการ	.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.อังคณา เธียรมนตรี)	(อาจารย์ ดร.ทพญ.สุพิชชา ตลึงจิตร)
.....กรรมการ	.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.สุวรรณา จิตภักดีบดินทร์)	(นายบุญสิทธิ์ บัวบาน)
.....กรรมการ	.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)	(นายเขมรัฐ เขมวงศ์)

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ 6 แสดงค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) (เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม)

Time	Group	Median (95% CI) of Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml)	*p*-value	Median (95% CI) of Lactobacilli (log_{10}CFU/ml)	*p*-value
T0	**Probiotic group (n=51)**	4.18 (3.74,4.60)	0.776	6.70 (6.41,6.88)	0.357
	Control group (n=49)	4.20 (3.74,4.64)		6.45 (6.34,6.64)	
T3	**Probiotic group (n=46)**	2.76 (0,3.78)	0.005*	6.78 (6.48,6.93)	0.043*
	Control group (n=48)	4.03 (3.00,4.46)		6.54 (6.18,6.70)	
T6	**Probiotic group (n=45)**	3.48 (0,4.48)	0.045*	6.70 (6.50,6.88)	0.052
	Control group (n=48)	4.38 (4.02,4.85)		6.43 (6.20,6.60)	

* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย *p*-value < 0.05 (Significance)

ตารางที่ 7 แสดงค่ากลาง และ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ เชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) (เปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกัน)

Group	Time	Median (95% CI) of Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml)	*p*-value	Median (95% CI) of Lactobacilli (log_{10}CFU/ml)	*p*-value
Probiotic group	T0	4.18 (3.74,4.60)		6.70 (6.41,6.88)	
	T3	2.76 (0,3.78)	0.003†	6.78 (6.48,6.93)	0.356
	T6	3.48 (0,4.48)	0.076	6.70 (6.50,6.88)	0.391
Control group	T0	4.20 (3.74,4.64)		6.45 (6.34,6.64)	
	T3	4.03 (3.00,4.46)	0.718	6.54 (6.18,6.70)	0.854
	T6	4.38 (4.02,4.85)	0.310	6.43 (6.20,6.60)	0.747

† เปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆ กับที่เวลาเริ่มต้น (T0) ใช้สถิติ Friedman's test with Bonferroni corrections (*p*-value < 0.017)

จำนวนตัวอย่างของกลุ่มโพรไบโอติก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 46 คน และ เวลา T0 กับ T6 = 45 คน

จำนวนตัวอย่างของกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 48 คน และ เวลา T0 กับ T6 = 48 คน

ตารางที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลา เริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) โดยแบ่งตามระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาตั้งต้นเป็น ระดับต่ำ กลาง สูง

Group	Level of mutans streptococci at T0†					
	Low		Moderate		High	
	Decrease N (%)	Not decrease N (%)	Decrease N (%)	Not decrease N (%)	Decrease N (%)	Not decrease N (%)
Probiotic (n=43)	0 (0%)	12 (100%)	13 (59.1%)	9 (40.9%)	7 (77.8%)	2 (22.2%)
Control (n=47)	0 (0%)	12 (100%)	7 (28%)	18 (72%)	7 (70%)	3 (30%)

† ระดับของเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น T0 แบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่

- ระดับต่ำ (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3 $\log_{10}$CFU/ml)
- ระดับกลาง (ตั้งแต่ 3 ถึง น้อยกว่า 5 $\log_{10}$CFU/ml)
- ระดับสูง (มากกว่าหรือเท่ากับ 5 $\log_{10}$CFU/ml)

Decrease หมายถึง การลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3)

Not decrease หมายถึง การเพิ่มขึ้นหรือการคงที่ของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5910820007

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2556

ทุนการศึกษา

1. ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2561 จากบัณฑิตวิทยาลัย
2. ทุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ / โครงการวิจัยสำหรับนักศึกษาหลังปริญญาจากเงินกองทุนวิจัย
3. ทุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ / โครงการวิจัย / โครงการพิเศษสำหรับนักศึกษาหลังปริญญาจากเงินรายได้คณะทันตแพทยศาสตร์

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ทันตแพทย์ปฏิบัติการ กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลพระปกเกล้า อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ณัฐฐิณี จันทร์วงศ์, สุพัชรินทร์ พิวัฒน์, รวี เถียรไพศาล, นุชนรี อัครชนียากร การใช้นมผงผสมโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11เพื่อผลในการลดเชื้อ mutans streptococci ในเด็กเล็ก : การทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม. มหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2561 (Thailand Research Expo 2018); วันที่ 9-13 สิงหาคม 2561; ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์และบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ, ประเทศไทย; 2561.