ผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กอายุ 12-15 ปี

Effect of Milk Powder Contained Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* SD11 on Mutans streptococci in Children 12-15 Years Old

ชวรชต์ มาไพศาลสิน

Chavarot Mapaisansin

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

ผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กอายุ 12-15 ปี

Effect of Milk Powder Contained Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* SD11 on Mutans streptococci in Children 12-15 Years Old

ชวรชต์ มาไพศาลสิน

Chavarot Mapaisansin

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 ผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กอายุ 12-15 ปี

ผู้เขียน นางสาวชวรชต์ มาไพศาลสิน

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

.....

(อาจารย์พิชานัน ศรีสมหมาย)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประทีป พันธุมวนิช)

.....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 ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

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

ลงชื่อ .....
(นางสาวชวรชต์ มาไพศาลสิน)
นักศึกษา

ข้าพเข้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุบัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ .....

(นางสาวชวรชต์ มาไพศาลสิน)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ Mutans streptococci ในเด็กอายุ 12-15 ปี

ผู้เขียน นางสาวชวรชต์ มาไพศาลสิน

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลระยะสั้นของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ mutans streptococci (MS) ในช่องปาก สภาวะฟันผุ และประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานนมผงที่มี *L. rhamnosus* SD11 **วิธีการศึกษา:** อาสาสมัครที่ยินยอมเข้าร่วมการศึกษา 99 คน อายุระหว่าง 12-15 ปี ได้รับการสุ่มเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มโพรไบโอติกได้รับนมผงที่ผสม *L. rhamnosus* SD11 ปริมาณ 10^7 CFU/g และกลุ่มควบคุมได้รับนมผงปกติ ทั้งสองกลุ่มได้รับนมผงปริมาณ 5 กรัม ทุกวันเป็นเวลา 3 เดือน โดยมีการจดบันทึกการดื่มนมและผลข้างเคียงทุกวัน ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ MS และ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) 6 เดือน (T6) และ 9 เดือน (T9) โดยนับจำนวนโคโลนีเป็น CFU/ml และได้รับการตรวจฟันที่เวลาเริ่มต้น และ 9 เดือน (T9) ตามเกณฑ์ปรับปรุงจากดัชนี ICDAS **ผลการวิจัย:** พบว่าเชื้อ MS ในกลุ่มโพรไบโอติกน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่เวลา T3 และเมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มโพรไบโอติกพบว่าที่เวลา T3 เชื้อ MS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเวลา T0 และมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา T6 ส่วนเชื้อ MS ในกลุ่มควบคุมไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตลอดการศึกษา นอกจากนี้ปริมาณเชื้อ lactobacilli ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตลอดการศึกษา และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ ตลอดการศึกษาทั้งสองกลุ่ม นอกจากนี้กลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีการเกิดฟันผุใหม่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม **สรุปผล:** การได้รับนมผงที่มี *L. rhamnosus* SD11 สามารถลดปริมาณ mutans streptococci ในน้ำลายได้จึงมีแนวโน้มลดการลุกลามของโรคฟันผุได้ และมีความปลอดภัยสำหรับใช้ในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี

Thesis Title Effect of Milk Powder Contained Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* SD11 on Mutans streptococci in Children 12-15 Years Old

Author Miss Chavarot Mapaisansin

Major Program Oral Health Sciences

Academic Year 2018

ABSTRACT

Objectives: This study aims to evaluate the effects of short-term consumption of milk-powder containing *Lactobacillus rhamnosus* SD11 on the mutans streptococci (MS) colonization and dental caries prevention. The potential side effects of probiotic *L. rhamnosus* SD11 were also evaluated. **Materials and methods:** After informed consent, 99 children, 12-15 years old were included and randomly assigned to either the probiotic or control group. The children in probiotic group received 5 g of milk-powder containing *L. rhamnosus* SD11 10^7 CFU/g and the children in control group received standard milk-powder once daily for 3 months. Side effects and compliance were recorded every day. The MS and lactobacilli levels was assessed at baseline (T0), 3-month (T3), 6-month (T6) and 9-month (T9). The occurrence of dental caries were also determined at T0 and T9, using the modified ICDAS coding system. **Result:** There was a significantly reduction in MS counts in the probiotic group compared to the control group ($p<0.05$) at T3. In probiotic group, the significant reduction ($p<0.05$) of MS counts were detected at T3 when compared with T0. Similarly, MS counts decreased at T6, but no significance was found. Whereas, there was no statistically significant differences of MS counts in control group throughout the study. The number of lactobacilli were in the same level throughout the study. No side effects were reported throughout the study. At T9, the new caries lesion (△ds) were significantly reduced ($p<0.05$) in the probiotic group

compared with the control group. **Conclusion:** Our results indicates that consumption of milk-powder containing *L. rhamnosus* SD11 has resulted in the reduction of numbers of mutans streptococci in saliva and has a tendency to reduce development of new caries lesions. *L. rhamnosus* SD11 was safe for use in children 12-15 years old.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ และศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล อาจารย์คณะทันตแพทยศาสตร์ ผู้ซึ่งให้คำปรึกษา แนะนำ เอาใจใส่และให้ความรู้ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ ตลอดจนสละเวลาช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล ที่ช่วยให้คำแนะนำและให้ความรู้ในการทำวิจัยเกี่ยวกับการเลี้ยงเชื้อและการทำงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้ให้แนวคิดและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์และทำให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณะทันตแพทยศาสตร์และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ช่วยสนับสนุนทุนอุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอบคุณหน่วยบัณฑิตศึกษา คณะทันต-แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการจัดทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณนางสาวนงเยาว์ อุไรรัตน์ บุคลากรภาควิชาทันตกรรมป้องกันที่ให้การสนับสนุน อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือข้าพเจ้าในทุกเรื่อง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาโอษฐวิทยา นางสาวนันทิยา พาหุมันโต นางสาวเบญจมาศ โสภะถา และนางสาวสุพรรษา อุไรพันธ์ ที่ให้คำแนะนำและสอนการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาให้แก่ข้าพเจ้า ขอขอบคุณเพื่อนๆ รุ่นพี่และรุ่นน้องนักศึกษาหลังปริญญา สาขาทันตกรรมสำหรับเด็กที่ให้กำลังใจทั้งเรื่องการเรียนและการทำวิจัย คอยสนับสนุนทั้งแรงกายและแรงใจตลอดมา และขอขอบคุณนางสาวณัฐฐิณี จันทร์วงศ์ เป็นเพื่อนร่วมวิจัยที่ทำงานเคียงข้างกันตลอดมา

ขอขอบพระคุณนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดศรีสะเกษ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ โรงพยาบาลต้นสังกัดที่สนับสนุนทุนการลาศึกษาต่อของข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว ที่คอยสนับสนุนในทุกเรื่อง ขอขอบพระคุณคณาจารย์บุคลากรทุกท่านในภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและให้กำลังใจในการเรียนและทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา คุณงามความดีที่เกิดจากการวิจัยครั้งนี้ ขอมอบแต่บุพการีและคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิประสาทวิชาตั้งแต่เริ่มต้นการศึกษาของข้าพเจ้า

ชวรชต์ มาไพศาลสิน

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (5)

abstract (6)

กิตติกรรมประกาศ (8)

สารบัญ (9)

รายการตาราง (10)

รายการรูป (12)

บทที่

1 บทนำ

บทนำต้นเรื่อง 1

การทบทวนวรรณกรรม 4

วัตถุประสงค์ 18

2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ 19

3 ผลการวิจัย 33

4 บทวิจารณ์ 45

5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 49

เอกสารอ้างอิง 50

ภาคผนวก 57

ประวัติผู้เขียน 67

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 สรุปการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก ที่สัมพันธ์กับการเกิดฟันผุ 11

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจ และการเก็บข้อมูลที่เวลาต่างๆ ในการศึกษา 25

ตารางที่ 3 แสดงเกณฑ์การตรวจฟันผุ (ปรับปรุงจาก ICDAS, 2009) 27

ตารางที่ 4 แสดงการประเมินลักษณะการดำเนินรอยผุตามเกณฑ์ ICDAS 28

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนและร้อยละของเพศ และแสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุของกลุ่มตัวอย่าง โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น (T0) 34

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และจำนวนด้านฟันผุ โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น (T0) 35

ตารางที่ 7 แสดงค่ากลาง ค่า 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 6 เดือน และ 9 เดือน (เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม) 37

ตารางที่ 8 แสดงค่ากลาง ค่า 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) 6 เดือน (T6) และ 9 เดือน (T9) (เปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกัน) 38

ตารางที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) 39

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นและ 3 เดือน 39

ตารางที่ 11 แสดงร้อยละจำนวนด้านฟันผุระดับต่างๆที่เวลาเริ่มต้น (T0) และ 9 เดือน (T9) 41

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย ค่ากลางและ 95% CI ของจำนวนด้านฟันที่มีการเปลี่ยนแปลงด้านฟันผุที่เวลา 9 เดือน (T9) เมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น 43

ตารางที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการลุกลามของรอยโรคฟันผุที่เวลาเริ่มต้นและที่เวลา 9 เดือน กับการได้รับโพรไบโอติก 43

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฟันผุที่เวลาเริ่มต้นและ 9 เดือน กับการได้รับโพรไบโอติก 44

ตารางที่ 15 แสดงค่ากลางและ 95% CI ของจำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (T0) ที่เวลา 9 เดือน (T9) และจำนวนด้านฟันที่เกิดการผุขึ้นใหม่ในช่วงเวลา 9 เดือน (△ds) 44

ตารางที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น T0 ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) กับการได้รับโพรไบโอติกโดยแบ่งระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาตั้งต้นเป็นระดับ ต่ำ กลาง สูง 66

รายการรูปภาพ

รูปภาพที่ **หน้า**

รูปที่ 1 กลไกของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีผลในช่องปาก 5
รูปที่ 2 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานในการศึกษาวิจัย 22

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

โรคฟันผุเป็นปัญหาทางสุขภาพช่องปากที่สามารถพบได้ในประชากรทุกเพศ ทุกวัย จากการสำรวจขององค์การอนามัยโลกพบว่า เด็กช่วงวัยเรียนทั่วโลกมีฟันผุร้อยละ 60-90[1] จากข้อมูลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติของประเทศไทยครั้งที่ 6 ปี พ.ศ. 2549-2550 และครั้งที่ 7 ปี พ.ศ. 2554-2555 จัดทำโดยสำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย พบว่าเด็กอายุ 12 ปี ซึ่งเป็นช่วงแรกที่มีฟันแท้ขึ้นครบแต่พบว่ามีความชุกของการเกิดฟันผุที่สูงถึงร้อยละ 56.87 และร้อยละ 52.3 มีค่าเฉลี่ยผุ อุด ถอน (DMFT) 1.55 และ 1.3 ซี่ต่อคน ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบผลสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติทั้ง 2 ครั้ง ถึงแม้จะมีการเกิดฟันผุลดลง แต่สภาวะฟันผุในฟันแท้ของทั้ง 2 กลุ่มอายุนี้ก็ยังมีค่าที่สูง ข้อมูลสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 7 ที่ภาคใต้พบว่าเด็กอายุ 12 ปี ที่เป็นโรคฟันผุในฟันแท้ ร้อยละ 55.4 มีค่าเฉลี่ย ผุ อุด ถอน 1.1 ซี่ต่อคน และมีปัญหาการปวดฟันจากโรคฟันผุร้อยละ 41.7[2, 3] แสดงให้เห็นว่าฟันยังเป็นปัญหาในเด็กภาคใต้ ซึ่งผลกระทบของฟันผุจะมีอาการเริ่มแรก คือ จะมีอาการเสียวฟัน จากนั้นถ้าไม่ได้รับการรักษาฟันผุจะลุกลามถึงโพรงประสาทฟันทำให้เกิดการอาการปวดฟัน การติดเชื้อ ส่งผลต่อการบดเคี้ยวอาหาร ความสวยงามได้ นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพองค์รวม คุณภาพชีวิต ค่าใช้จ่ายที่สูงเพื่อการรักษา และกระทบต่อการเรียนของเด็ก

ฟันผุมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยประกอบกัน คือ เชื้อจุลินทรีย์ อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตแป้งและน้ำตาล ลักษณะช่องปากของผู้ป่วย และระยะเวลาที่ฟันสัมผัสกับกรด โดยแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการเกิดฟันผุ คือ เชื้อในกลุ่ม mutans streptococci ซึ่งพบได้ในช่องปากบริเวณแผ่นคราบจุลินทรีย์และน้ำลาย ในเด็กที่มีฟันผุมากจะพบเชื้อดังกล่าวจำนวนมากกว่าเด็กที่ไม่มีฟันผุ จึงเกิดแนวคิดในการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคฟันผุ ซึ่งเป็นเรื่องที่ได้รับความสนใจ และมีการพัฒนามากขึ้นในปัจจุบัน

โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้บริโภคในปริมาณที่พอเหมาะจะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์[4] ความเชื่อนี้เริ่มจากในต้นศตวรรษที่ 20 โดย Elie Metchnikoff ได้รายงานว่าชาวบัลแกเรียมีอายุยืนนานกว่าประชากรชาติอื่นๆ คาดว่าสัมพันธ์กับการ

บริโภคผลิตภัณฑ์จากนมที่มีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ นำมาสู่แนวคิดในการนำแบคทีเรียที่ไม่เป็นอันตรายเข้าไปช่วยทำให้เกิดความสมดุลของเชื้อในร่างกาย และสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ ทำให้ลดจำนวนเชื้อก่อโรค และร่างกายสามารถต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ดีขึ้น[5] จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่ามีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคทางระบบทางเดินอาหาร โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น[6, 7] ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษาประโยชน์ของโพรไบโอติกต่อช่องปาก เช่น การป้องกันโรคฟันผุ โรคปริทันต์ ภาวะกลิ่นปาก และรักษาการติดเชื้อราในช่องปาก โดยมีการศึกษาแบบ systematic review และ meta-analysis ที่พบว่าเชื้อโพรไบโอติกสามารถลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคฟันผุได้ จึงมีผลในการช่วยในการลดและป้องกันการเกิดโรคฟันผุ[8, 9]

เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติกเป็นเชื้อกลุ่มที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติค (lactic-acid bacteria) ที่เป็น anaerobic หรือ facultative anaerobic gram positive bacilli เช่น *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* เป็นต้น[10] จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อโพรไบโอติกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans*[11] จากนั้นจึงได้นำมาศึกษาต่อทางคลินิกซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ลงได้หลังจากบริโภคนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก[12] แต่เมื่อศึกษาดูผลการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกหลังจากบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกที่มีสายพันธุ์มาจากระบบทางเดินอาหารพบว่าจำนวนเชื้อโพรไบโอติกในน้ำลายลดจำนวนลงเรื่อยๆ จนไม่สามารถตรวจพบได้ อาจเนื่องจากไม่สามารถเกาะติดกับเยื่อบุผิวในช่องปากได้ และสภาวะในช่องปากไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจึงไม่สามารถดำรงอยู่ในช่องปากได้นาน[13] จึงได้เริ่มมีการศึกษาจำแนกเชื้อจากในช่องปากที่สามารถเป็นโพรไบโอติกได้

โดยจากการศึกษาของ Piwat และคณะ ได้มีการจำแนกและคัดเลือกเชื้อจากในช่องปากที่มีความสามารถเป็นโพรไบโอติกได้ คือ *Lactobacillus paracasei* SD1 ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นโดยได้มาจากช่องปากเด็กที่ปราศจากฟันผุ[14] ต่อมาได้นำมาศึกษาระยะสั้นและระยะยาวในอาสาสมัครวัยรุ่นสุขภาพดี ได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ระยะสั้นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และระยะยาวเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อในกลุ่ม mutans streptococci ได้ และสามารถตรวจพบเชื้อ *L. paracasei* SD1 ในช่องปากได้หลังจากหยุดรับประทานนมผงได้ถึง 3 เดือน[15, 16]

ต่อมาได้มีการศึกษาเพื่อหาเชื้อโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติที่สามารถป้องกันโรคในช่องปากเช่นเดียวกับ *L. paracasei* SD1 คือ *L. rhamnosus* SD11 จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อ *L. rhamnosus* ที่ได้มาจากเด็กที่ปราศจากฟันผุสามารถผลิตสารแบคทีริโอซินได้ ยึดเกาะ (adhesion) กับเยื่อบุผิวในช่องปากได้ และเกาะกลุ่มระหว่างแบคทีเรียชนิดเดียวกัน (autoaggregation) และต่างชนิดกัน (coaggregation) ได้ดีกว่าเชื้อ *L. paracasei*[17] นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 ได้ดีกว่าเชื้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[18] จากนั้นได้มีการศึกษาระยะสั้นในอาสาสมัครวัยรุ่นสุขภาพดี ได้รับโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 วันละครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มศึกษามีจำนวนเชื้อในกลุ่ม mutans streptococci ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถตรวจพบเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปากได้ถึงร้อยละ 80.95 ของกลุ่มศึกษาที่ได้รับโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกเมื่อติดตามไปจนถึง 4 สัปดาห์[19]

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้เป็นการต่อยอดจากการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยจะศึกษาถึงผลของการใช้นมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อการป้องกันโรคฟันผุในระยะยาวขึ้นในการยับยั้งเชื้อ mutans streptococci และประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 โดยศึกษาในเด็กอายุ 12-15 ปี

ทบทวนวรรณกรรม

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotic) มาจากภาษากรีกมีความหมายว่า “for life” ในปี ค.ศ. 1989 Fuller ได้ให้คำนิยามโพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับเพิ่มเติมจะมีประโยชน์ต่อมนุษย์โดยจะช่วยปรับสมดุลของเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ต่อมาองค์การด้านอาหารและเกษตรของสหรัฐอเมริกา และองค์การอนามัยโลกให้คำนิยามโพรไบโอติกไว้ว่า โพรไบโอติก คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อบริโภคในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกาย อาจให้ผลในการช่วยป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆ ได้[4] เริ่มแรกโพรไบโอติกถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคทางระบบทางเดินอาหาร และการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ต่อมาได้มีการศึกษาเพื่อนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาและป้องกันโรคอื่นๆ เช่น การกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง การรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง รักษาโรคภูมิแพ้ ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ ช่วยลดการดูดซึมไขมันและคอเลสเตอรอล รวมถึงการนำมาใช้กับโรคในช่องปาก[6, 7, 20] โดยแบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกได้แก่ แบคทีเรียแอนแอโรบิกแกรมบวกกลุ่ม bacilli (anaerobic gram positive bacilli) ที่สามารถผลิตกรดแลคติคได้ คือ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*[15, 16, 21] เช่น

- *Lactobacillus* เช่น *L. rhamnosus*, L. *acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. salivarium*, *L. plantarum*
- *Bifidobacterium* เช่น *B. bifidum, B. breve, B. infantis, B. longum, B. lactis, B. adolescentis*[22]

กลไกของโพรไบโอติก

กลไกการทำงานของโพรไบโอติกในช่องปากมีทั้งทางตรงและทางอ้อมที่ช่วยให้สุขภาพช่องปากดีขึ้น

กลไกของโพรไบโอติกที่มีผลทางตรง คือ[22]

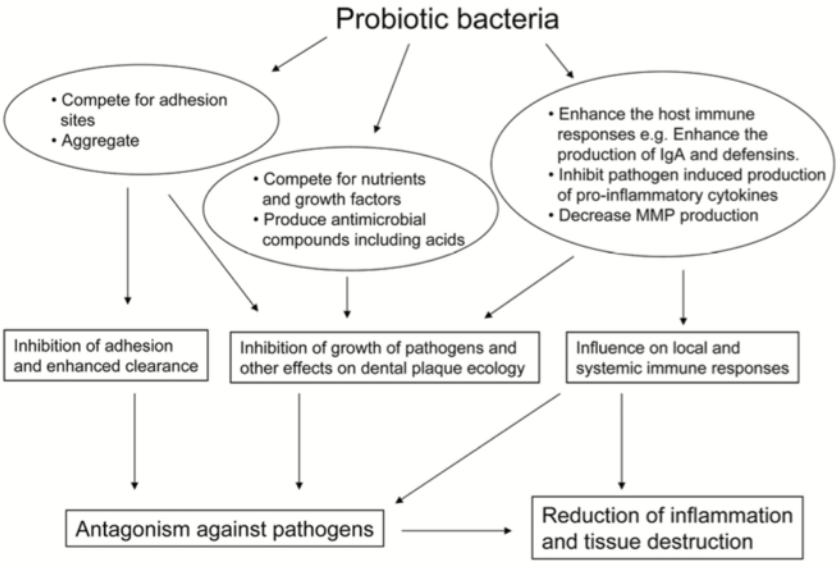
1. การยึดเกาะของแบคทีเรีย (bacterial attachment) โดยโพรไบโอติกมีความสามารถในการแย่งจับกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ตำแหน่ง binding site ในช่องปากจากการสร้างสาร

biosurfactant ที่ช่วยป้องกันการยึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรค ส่งผลให้แบคทีเรียก่อโรคมีโอกาสยึดเกาะในช่องปากได้น้อยลง

2. สร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โพรไบโอติกมีความสามารถในการสร้างสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปากได้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) แบคทีริโอซิน[23] สารที่มีฤทธิ์เป็นกรด และสารยับยั้งอื่นๆ ได้

3. การแย่งใช้อาหาร (substrate) หรือปัจจัยต่างๆ ที่เชื้อก่อโรคต้องใช้ในการเจริญเติบโต โพรไบโอติกมีความสามารถในการแย่งใช้อาหารของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก

กลไกของโพรไบโอติกที่มีผลทางอ้อม คือ การส่งเสริมให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคหลุดออก และเหนี่ยวนำให้เกิดสิ่งแวดล้อมที่เป็นปกติในช่องปาก ช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะและไม่จำเพาะของร่างกายให้พร้อมสำหรับการต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเนื้อเยื่อในการป้องกันเชื้อก่อโรคเข้าสู่ร่างกาย[24] ควบคุมการเลือกผ่าน (permeability) ของสารและเชื้อแบคทีเรียของเซลล์เยื่อบุช่องปาก และส่งเสริมการสร้างโคโลนีของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในช่องปากส่งผลให้ลดปริมาณเชื้อก่อโรค ซึ่งกลไกของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีผลต่อช่องปากสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 1[20]



รูปที่ 1 กลไกของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีผลในช่องปาก

โรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปากพบได้บ่อยในช่องปาก เกิดการทำลายเนื้อเยื่อของฟัน โดยเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) จากภาวะเป็นกรดโดยเฉพาะกรดแลคติค ซึ่งเป็นผลจากการย่อยสลายอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียในแผ่นคราบจุลินทรีย์ ถ้าสามารถลดการสูญเสียแร่ธาตุจากกรดจะสามารถลดโอกาสการเกิดฟันผุของฟันและเพิ่มความต้านทานต่อการผุของฟันได้ โรคฟันผุเป็นปัญหาทันตสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทย จากข้อมูลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 7 ปี พ.ศ.2554-2555[3] พบว่าร้อยละ 52.3 ของเด็กอายุ 12 ปีเป็นโรคฟันผุในฟันแท้

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการเกิดโรคฟันผุ

1) โฮสต์ (host) คือ ปัจจัยสำคัญของโฮสต์ที่มีผลต่อการเกิดโรคฟันผุ ได้แก่

1.1 ฟัน

ฟันที่เพิ่งขึ้นมาในช่องปากจะมีโอกาสผุง่ายหลังจากฟันขึ้นมาจะมีการสะสมแร่ธาตุมากขึ้น (post-eruption maturation) มีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของผิวเคลือบฟัน และมีการสะสมของสารอนินทรีย์ในช่องว่างที่เกิดจากการสูญเสียแร่ธาตุซึ่งช่วยในการป้องกันฟันผุ นอกจากนี้ตำแหน่งของฟัน รูปร่าง โครงสร้าง และอายุของฟัน มีผลต่อความไวของการเกิดโรคฟันผุแตกต่างกัน เช่น ฟันกรามที่มีหลุมร่องฟันลึกและขรุขระส่งผลให้คราบจุลินทรีย์มีโอกาสติดฟันได้ง่าย และทำความสะอาดได้ยากขึ้น โอกาสเกิดโรคฟันผุจะมากขึ้น

1.2 น้ำลาย

น้ำลายทำหน้าที่เสมือนเป็นด่านแรกในการต่อต้านการเกิดฟันผุ การติดเชื้อในช่องปาก และอันตรายที่อาจเกิดขึ้นบริเวณเยื่อเมือกช่องปาก โดยน้ำลายช่วยป้องกันการเกิดฟันผุโดยการชะล้าง และความเป็นบัฟเฟอร์ที่ช่วยให้สภาวะเป็นกรดในช่องปากกลับคืนสู่สภาวะเป็นกลาง ทำให้ไม่เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ และยังมีแร่ธาตุที่ช่วยในการคืนกลับแร่ธาตุภายหลังจากที่ฟันมีการสูญเสียแร่ธาตุไปช่วยในการซ่อมแซม และการป้องกันการสูญเสียแร่ธาตุจากเคลือบฟัน นอกจากนี้ในน้ำลายยังมีสารต้านจุลชีพ เช่น lysozyme, lactoferrin, cystatins พบว่าโปรตีนเหล่านี้สามารถยับยั้งกระบวนการเกิด metabolism การยึดเกาะ และความอยู่รอดของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดฟันผุได้

2) อาหาร

อาหารที่มีผลโดยตรงต่อการเกิดโรคฟันผุ คือ อาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต และน้ำตาล โดยแบคทีเรียจะสามารถย่อยแล้วทำให้ช่องปากมีภาวะความเป็นกรด โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครสเมื่อผ่านการย่อยแล้วทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดที่สูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่ม mutans streptococci สามารถใช้น้ำตาลซูโครสในการสร้างพอลิเมอร์ของโพลิแซกคาไรด์ที่เรียกว่ากลูแคน (glucan) เพื่อให้สามารถยึดเกาะที่ผิวฟันและที่แผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ดี เพราะฉะนั้นการบริโภคน้ำตาลซูโครสในปริมาณและความถี่สูงจะส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของเชื้อกลุ่ม mutans streptococci ทำให้มีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุสูง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ลักษณะของอาหารที่เหนียวติดฟันทำให้อาหารสัมผัสและติดอยู่ที่ผิวฟันได้นานกว่าอาหารในรูปแบบอื่นๆ อาหารที่มีสารป้องกันฟันผุ เช่น แคลเซียม ฟอสเฟต ฟลูออไรด์ และชนิดของคาร์โบไฮเดรต โดยคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อน เช่น แป้ง จะทำให้ฟันผุยากกว่าน้ำตาลที่ไม่ซับซ้อน

3) คราบจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่พบในคราบจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคฟันผุ คือ เชื้อในกลุ่ม mutans streptococci และ lactobacilli ความรุนแรงของเชื้อจุลินทรีย์จะสัมพันธ์กับความสามารถในการสร้างกรดต่อเนื่องที่ pH ต่ำๆ ทำให้ฟันสูญเสียแร่ธาตุ โดยเชื้อในกลุ่ม mutans streptococci มีความสัมพันธ์กับรอยผุระยะเริ่มต้น ในขณะที่เชื้อกลุ่ม lactobacilli มีความสัมพันธ์กับฟันผุในระยะลุกลาม และเป็นโพรงฟันผุแล้ว มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างเด็กที่มีฟันผุในช่องปากกับจำนวนเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลายและแผ่นคราบจุลินทรีย์พบว่า เด็กที่มีฟันผุในช่องปากพบว่ามีจำนวนเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในปริมาณสูง[25, 26] Fragkou และคณะในปี ค.ศ. 2016 ได้ทำการศึกษาปริมาณของเชื้อ *S. mutans, S. sorbinus* และเชื้อ *C. albicans* ในช่องปากเด็กที่มีฟันผุพบว่ามีจำนวน *S. mutans, S. sorbinus* และ *C. albicans* ในปริมาณ 66%, 11% และ 18% ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า เชื้อ *S. mutans* เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุหลัก และมีความรุนแรงต่อการเกิดโรคฟันผุสูง เนื่องจาก *S. mutans* สามารถสร้างกรดได้จำนวนมาก สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง และสามารถสังเคราะห์กลูแคนจากน้ำตาลซูโครสได้ ซึ่งช่วยในการยึดติดกับผิวฟันของเชื้อกลุ่มดังกล่าว[27]

ภายในช่องปากจะมีกระบวนการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุ คือ การสูญเสียแร่ธาตุจากตัวฟัน (demineralization) และการคืนกลับแร่ธาตุสู่ตัวฟัน (remineralization) เรียกว่าพลวัตของโรคฟันผุ (dynamic of caries) ในสภาวะปกติทั้งสองกระบวนการนี้จะมีความสมดุลกัน แต่ในสภาวะที่

เชื้อจุลินทรีย์มีการย่อยสลายอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและผลิตกรดออกมาค่า pH ในช่องปากลดลงส่งผลให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมากกว่าการคืนกลับแร่ธาตุสู่ตัวฟัน ถ้าเกิดขึ้นบ่อยครั้งจะทำให้เกิดฟันผุได้[28] ถ้าสามารถลดการสูญเสียแร่ธาตุจากกรดจะสามารถลดโอกาสการเกิดฟันผุและเพิ่มความต้านทานต่อการผุของฟันได้

รอยโรคฟันผุมีหลายระยะ เมื่อมีการสูญเสียแร่ธาตุมากกว่าการคืนกลับแร่ธาตุทำให้เกิดรอยโรคฟันผุ ฟันผุระยะเริ่มต้น (initial carious lesion) ตรวจทางคลินิกพบรอยโรคสีขาวขุ่นที่ผิวเคลือบฟัน (white spot lesion) จะเห็นรอยโรคชัดเจนเมื่อเป่าฟันแห้ง หากรอยโรคยังคงดำเนินต่อจะพบรอยโรคฟันผุลุกลามจนถึงชั้นเนื้อฟันจนแตกออกเป็นรู[29] ฟันผุระยะเริ่มต้นที่ไม่ลุกลามจนเป็นรูจะสามารถผันกลับไปเป็นเคลือบฟันปกติได้ เมื่อมีการคืนกลับแร่ธาตุมากกว่าการสูญเสียแร่ธาตุ[30]

การป้องกันฟันผุ

โรคฟันผุเป็นกระบวนการที่เกิดจากการสูญเสียสมดุลระหว่างการสูญเสียแร่ธาตุและการคืนกลับแร่ธาตุ หรือกล่าวอีกนัยว่าฟันผุเป็นการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยก่อโรคกับปัจจัยป้องกันโรค ดังนั้นแนวทางการป้องกันโรคฟันผุอาจแบ่งเป็น 2 แนวทาง คือ การเพิ่มความต้านทานของฟันโดยการใช้ฟลูออไรด์ และการเคลือบหลุมร่องฟัน อีกแนวทาง คือ การลดปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียแร่ธาตุ เช่น การลดปริมาณ และความถี่ในการรับประทานอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาล การใช้น้ำตาลชนิดที่แบคทีเรียไม่สามารถหรือมีความสามารถในการย่อยน้อย และการควบคุมแผ่นคราบจุลินทรีย์ (dental plaque) เพื่อลดจำนวนเชื้อก่อโรคฟันผุ โดยการดูแลสุขอนามัยในช่องปาก การใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น คลอเฮ็กซีดีน นอกจากนี้ในปัจจุบันมีอีกทางเลือกหนึ่งคือ การใช้โพรไบโอติกเพื่อป้องกันฟันผุได้

โพรไบโอติกกับสุขภาพช่องปาก

ในทางทันตกรรมมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการลดจำนวนเชื้อก่อโรคในช่องปาก ทำให้สามารถป้องกันและรักษาโรคฟันผุ โรคปริทันต์ ภาวะกลิ่นปาก และรักษาการติดเชื้อราแคนดิดาได้ สำหรับคุณสมบัติในอุดมคติของโพรไบโอติกที่ต้องการในการใช้ป้องกันการเกิดโรคในช่องปากได้แก่

1. สามารถเกาะติดกับผิวฟันได้

2. สามารถสร้างสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปากได้ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acids) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคทีริโอซินได้
3. มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมในช่องปากได้ เช่น สามารถควบคุมความเป็น กรดด่างหรือปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และรีดักชั่นในช่องปากได้
4. ลดการตอบสนองต่อการอักเสบได้ โดยกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันแบบไม่เจาะจง (non-specific immunity) และควบคุมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบใช้สารน้ำ (humoral immune response) และแบบใช้เซลล์ (cell-mediated immune response)

โพรไบโอติกกับโรคฟันผุจะกล่าวโดยละเอียดต่อไปในหัวข้อต่อไป ในส่วนของโรคปริทันต์มีการศึกษาการใช้โพรไบโอติกในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงของโรคปริทันต์อักเสบสูง เช่น คนที่สูบบุหรี่ โดยใช้ยาเม็ดที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. salivarius* WB21 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าผู้ป่วยจะมีผลรวมของค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) ที่ดีขึ้น และช่วยลดความลึกของร่องลึกปริทันต์[31] และสามารถลดเชื้อ *Prevotella intermedia* และ *Porphyromonas gingivalis* เมื่อรับประทานยาเม็ดที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. reuteri* วันละครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์[32] ภาวะกลิ่นปาก เริ่มมีการนำโพรไบโอติกมาให้ใช้ในการรักษาภาวะกลิ่นปาก โดยเมื่อศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อโพรไบโอติก *Weissella cibaria* มีคุณสมบัติในการยับยั้งการผลิต volatile sulphur compounds จากที่ผลิตจากเชื้อ *Fusobacterium nucleatum* และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *F. nucleatum* ซึ่งให้ผลเหมือนกันเมื่อศึกษาในมนุษย์[33] นอกจากนี้โพรไบโอติกยังช่วยควบคุมการติดเชื้อรา candida จากการศึกษาในประชากรสูงอายุที่ได้รับประทานชีสที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhammnosus* GG พบว่ามีความชุกของการติดเชื้อรา candida ลดลง[34]

การป้องกันโรคฟันผุโดยใช้โพรไบโอติก

การเกิดโรคฟันผุนั้นเป็นการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคกับปัจจัยที่ทำหน้าที่ป้องกันโรค ปัจจัยที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคฟันผุปัจจัยหนึ่งคือ เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในคราบจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดทำให้ฟันสูญเสียแร่ธาตุ จึงนำไปสู่แนวทางในการป้องกันฟันผุโดยการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ โดยการใช้โพรไบโอติกรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ใช้เป็นตัวนำเชื้อ โพรไบโอติกเข้าสู่ร่างกายมีหลายชนิด เช่น นม โยเกิร์ต ชีส ยาอม ไอศกรีม น้ำผลไม้ เป็นต้น

มีการศึกษานำโพรไบโอติกมาใช้ในช่องปากเพื่อป้องกันการเกิดฟันผุ โดยการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกซึ่งเตรียมจากเชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* โดยมีวิธีการประเมินผลการศึกษา 2 รูปแบบ คือ ประเมินจำนวนของเชื้อ mutans streptococci ในช่องปาก และประเมินจำนวนฟันผุ

จากหลายการศึกษาที่ประเมินผลของโพรไบโอติกจากจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในช่องปาก พบว่าจากกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อโพรไบโอติกกลุ่ม *Lactobacillus* ได้แก่ *L. rhamnosus*[12], *L. reuteri*[10], *L. paracasei*[15, 35] , *L. brevis* และเชื้อกลุ่ม *Bifidobacterium*[36] สามารถลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีบางการศึกษาให้ผลขัดแย้ง จากการให้อาสาสมัครทานโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *B. animalis subsp. lactis* DN-173010 วันละครั้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าไม่สามารถลดจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในช่องปากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[37] นอกจากนี้ยังมีอีกหลายการศึกษาสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สรุปการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกที่สัมพันธ์กับการเกิดฟันผุ

ผู้ศึกษา/ ปีที่ศึกษา/ ประเทศ	จำนวนกลุ่มตัวอย่าง (อายุ)	กลุ่มทดลอง / สายพันธ์เชื้อโพรไบโอติก	Delivery system/ ระยะเวลาในการรักษา	ผลการศึกษา
2009/ Stecksén-Blicks et al./ sweden [38]	186 คน (1-5 ปี)	1 : นมผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* LB21 2 : นม	ดื่มนมวันละ 150 มล. ทุกวันจันทร์-ศุกร์ เป็นเวลา 21 เดือน	กลุ่มที่ได้ดื่มนมผสมโพรไบโอติก มีฟันผุลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
2011/Singh et al./India [39]	40 คน (12-14 ปี)	1 : ไอศกรีมผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* LB21 2 : ไอศกรีม	รับประทานไอศกรีมวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 10 วัน	กลุ่มที่ได้ไอศกรีมผสมโพรไบโอติกมีปริมาณ MS ในน้ำลายลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
2012/ Taipale/ Finland [41]	106 คน (1 เดือน)	1 : ยาเม็ดผสมโพรไบโอติก *B. animalis* subsp. lactis BB-12 2 : ยาเม็ด xylitol 3 : ยาเม็ด sorbitol	อมยาเม็ดใน pacifier แบบละลายช้า วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 24 เดือน	กลุ่มที่อมยาเม็ดผสมโพรไบโอติกมีการ colonization ของเชื้อ MS น้อยที่สุดเมื่อเทียบกลับกลุ่มอื่นๆ
2012/ Mortazavi/ Iran [40]	60 คน (18-37 ปี)	1 : ชีสผสมโพรไบโอติก L. casei 2 : ชีส	รับประทานชีส 50 กรัม วันละ 2 ครั้ง (มื้อเช้าและเย็น) เป็นเวลา 2 สัปดาห์	กลุ่มที่ได้รับชีสโพรไบโอติกมีปริมาณ S. mutans ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม
2014/ Campus et al./Italy [42]	181 คน (6-8 ปี)	1 : ยาอมผสมโพรไบโอติก *L. brevis* CD2 ไม่มีน้ำตาล 2 : ยาอมไม่มีน้ำตาล	อมยาอมวันละครั้ง เป็นเวลา 6 สัปดาห์	กลุ่มที่ได้ยาอมผสมโพรไบโอติกมีปริมาณ MS ในน้ำลายลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
2015/ Hedayati-Hajikand et al./Denmark [43]	110 คน (2-3 ปี)	1 : ยาเม็ดผสมโพรไบโอติก *S. uberis* KJ2TM, *S. oralis* KJ3TM, *S. rattus* JH145 2 : ยาเม็ด	เคี้ยวยาเม็ดวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 1 ปี	กลุ่มที่ได้เคี้ยวยาเม็ดผสมโพรไบโอติกมีฟันผุลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รูปแบบผลิตภัณฑ์

การนำเชื้อโพรไบโอติกใส่ลงในผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการบริโภคเป็นตัวนำเชื้อโพรไบโอติกเข้าสู่ร่างกาย โดยผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่นิยม ได้แก่ นม โยเกิร์ต ชีส เป็นที่ทราบกันดีว่าผลิตภัณฑ์จากนมมีประโยชน์ต่อร่างกายและเป็นที่นิยมมากที่สุดเนื่องมาจากมีส่วนประกอบของแคลเซียม ฟอสเฟต และส่วนประกอบอื่นๆที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่มีคุณสมบัติช่วยในการต้านการเกิดฟันผุได้[44] micellar casein ในนมมีผลยับยั้งการตั้งถิ่นฐานของเชื้อ *S. sobrinus*[45] มีการศึกษาพบว่า casein phosphopeptides (CPPs) ในผลิตภัณฑ์จากนมมีผลยับยั้งการสูญเสียแร่ธาตุ และส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุในชั้นผิวเคลือบฟันได้[46] นอกจากนี้มีการผสมโพรไบโอติกในไอศกรีม ยาเม็ด ยาอม น้ำผลไม้ หมากฝรั่ง เป็นทางเลือกสำหรับผู้ที่แพ้ผลิตภัณฑ์จากนม

นมโพรไบโอติกกับการป้องกันฟันผุ

มีการศึกษาที่ใช้ผลิตภัณฑ์นมโพรไบโอติกต่อการป้องกันฟันผุ ดังนี้

ในปี ค.ศ. 2001 Nase และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของการบริโภคนมโพรไบโอติกในกลุ่มเด็กอายุ 1-6 ปี จำนวน 594 คน โดยกลุ่มทดลองได้รับนมโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhamnosus* GG และ *L. rhamnosus* ATCC53103 กลุ่มควบคุมได้รับนมธรรมดา เป็นระยะเวลา 7 เดือน พบว่ากลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายและในแผ่นคราบจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[47]

ในปี ค.ศ. 2012 Juneja และ Kakade ได้ทำการศึกษาระยะสั้นในการบริโภคนมโพรไบโอติกในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี จำนวน 40 คน โดยกลุ่มทดลองได้รับนมโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhamnosus* hct 70 กลุ่มควบคุมได้รับนมธรรมดาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายลดลงเมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังดื่มนมโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[12]

ในปี ค.ศ. 2016 Rodriguez และคณะ ได้ทำการศึกษาผลการบริโภคนมโพรไบโอติก ในกลุ่มอาสาสมัครเด็กอายุ 2-3 ปี จำนวน 261 คน โดยกลุ่มทดลองได้รับนมโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhamnosus* SP1 (10^7 CFU/g) กลุ่มทดลองได้รับนมปกติ 150 มิลลิลิตร วันละ 1

ครั้ง เฉพาะวันจันทร์ถึงวันศุกร์ เป็นระยะเวลา 10 เดือน พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีฟันผุที่เกิดใหม่ และการลุกลามของฟันผุลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม[48]

สายพันธุ์เชื้อโพรไบโอติกในช่องปาก

สายพันธุ์ของเชื้อโพรไบโอติกที่ถูกนำมาใช้รักษาและป้องกันโรคในช่องปาก คือ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เช่น *B. bifidum*, *L. casei* และ *L. rhamnosus* GG จากการศึกษาถึงการคงอยู่ในช่องปากของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG ซึ่งเป็นเชื้อที่มาจากช่องท้อง หลังจากดื่มน้ำผลไม้ที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG พบว่าหลังจากหยุดดื่มน้ำผลไม้ 7 วัน พบว่าการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกเหลืออยู่เพียง 3.6% แสดงให้เห็นว่าเชื้อโพรไบโอ-ติก *L. rhamnosus* GG ไม่สามารถคงอยู่ในช่องปากได้นาน ซึ่งอาจเนื่องมาจากไม่สามารถยึดเกาะและอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมในช่องปากได้ เพราะเป็นเชื้อที่ได้มาจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่ในช่องปาก[13] หากต้องการให้เชื้อโพรไบโอติกมีการคงอยู่ในช่องปากได้นานต้องมีการรับประทานเป็นประจำ ดังนั้นจึงได้เกิดแนวคิดที่จะหาเชื้อโพรไบโอติกที่มาจากช่องปาก

ในปี ค.ศ. 2010 Piwat และคณะ ได้ศึกษาตัวอย่างน้ำลายในเด็กจำนวน 165 คน อายุ 2-5 ปี เพื่อหาสายพันธุ์ของเชื้อ *Lactobacillus* ในช่องปาก พบว่าเชื้อ *Lactobacillus* ที่ตรวจพบในน้ำลายมี 10 สปีชีส์ 357 สายพันธุ์ แล้วนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นกับระดับความเสี่ยงของการเกิดฟันผุในเด็ก แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุน้อย และกลุ่มที่มีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุปานกลางถึงสูง จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *L. rhamnosus* สามารถพบได้ ในทุกกลุ่มแต่มีปริมาณที่น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ *Lactobacillus* สายพันธ์อื่นๆ และไม่พบความสัมพันธ์ของเชื้อ *L. rhamnosus* กับกระบวนการเกิดฟันผุ แต่เชื้อ *L. salivarius* ที่พบว่ามีความชุกสูงในช่องปากนั้น จะพบมากในกลุ่มที่มีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุปานกลางถึงสูง จึงมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคฟันผุ[14] ต่อมาได้มีการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ จาก *Lactobacillus* สายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกมาจากช่องปากเด็ก เพื่อหาสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติ ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปาก ความสามารถในการยึดเกาะกับเนื้อเยื่อในช่องปากและการเกาะกลุ่มกับเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นๆ สามารถอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมในช่องปากได้ เช่น ทนต่อเอนไซม์และความเป็นกรดเบสในช่องปากได้ จนสามารถอาศัย (colonization) อยู่ในช่องปากได้ พบว่าเชื้อ *Lactobacillus* แต่ละสปีชีส์จะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคฟันผุ *S.*

mutans ได้แตกต่างกัน โดยกลุ่มเชื้อ *L. paracasei* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ดีที่สุดตามด้วย *L. plantarum, L. rhamnosus, L. salivarius, L. casei* และ *L. fermentum*[18] ซึ่งจากการคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติที่เหมาะในการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในช่องปากมาศึกษาถึงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปากพบว่า *L. paracasei* SD1 สามารถสร้างสารโปรตีนต้านจุลชีพ (antimicrobial protein) ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. mutans*, *S. sorbinus, P. gingivalis* และ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*[49] จึงได้เริ่มมีการนำเชื้อ *L. paracasei* SD1 มาทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แล้วทำการศึกษาผลต่อเชื้อ mutans streptococci และดูความปลอดภัยโดยศึกษาในอาสาสมัครในผู้ป่วยกลุ่มปากแหว่งเพดานโหว่ที่มีสุขภาพแข็งแรงช่วงอายุวัยรุ่น 30 คน ได้รับนมผสมเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 รับประทานนมวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดเชื้อกลุ่ม mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับนมที่ไม่มีเชื้อ *L. paracasei* SD1 ความสามารถในการลดเชื้อสามารถคงอยู่ได้ถึง 4 สัปดาห์หลังจากหยุดทานนม รวมทั้งยังสามารถตรวจพบเชื้อ *L. paracasei* SD1 ในช่องปากหลังจากหยุดทานนมได้ถึง 4 สัปดาห์และไม่พบผลข้างเคียงตลอดการศึกษา[35] จากนั้นจึงได้ศึกษาในระยะยาวขึ้น โดยผสม *L. paracasei* SD1 ในนมให้เด็กอายุ 12-14 ปี ทานติดต่อกันทุกวันวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน สามารถลดเชื้อกลุ่ม mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และสามารถตรวจพบเชื้อ *L. paracasei* SD1 ได้แม้หยุดทานนมโพรไบโอติกเป็นเวลา 3 เดือน และไม่พบผลข้างเคียงตลอดการศึกษา[16]

Lactobacillus rhamnosus SD11

Lactobacillus rhamnosus SD11 เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ที่แยกมาจากช่องปากเด็กที่ปราศจากฟันผุเช่นเดียวกับ *L. paracasei* SD1 โดย *L. rhamnosus* SD11 มีคุณสมบัติที่โดดเด่นคือ สามารถผลิตแบคทีริโอซินที่มีน้ำหนักโมเลกุล 33,000 ดัลตัน[50] มีความสามารถในการยึดเกาะและการเกาะกลุ่มแบบ autoaggregation และ coaggregation ได้สูง[17] และสามารถผลิตกรดได้น้อยกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ[14]

จากคุณสมบัติดังกล่าวของเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 จึงได้มีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แล้วนำมาศึกษาผลต่อเชื้อ mutans streptococci ใช้ในรูปแบบโยเกิร์ต นำ *L. rhamnosus* SD11 ผสมในโยเกิร์ตให้อาสาสมัครอายุ 20-23 ปี จำนวน 43 คน รับประทานเป็นเวลา

4 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดเชื้อกลุ่ม mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์เมื่อเปรียบทียบกับเวลาเริ่มต้น[19] อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ *L. rhamnosus* SD11 ในการป้องกันฟันผุในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี

ความเสี่ยงของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกถูกนำมาใช้เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ การนำโพรไบโอติกใส่ลงในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อการบริโภคจะต้องมีการศึกษาคุณสมบัติและประเมินความปลอดภัยก่อนนำมาใช้กับมนุษย์ โดย WHO และ FAO ได้มีการจัดตั้ง Generally Recognized as Safe (GRAS) เพื่อควบคุมและตรวจสอบการใส่เชื้อโพรไบโอติกลงในอาหารเพื่อให้เกิดความปลอดภัย สายพันธุ์แบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติก คือ กลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* สามารถพบได้ในอาหารที่ผ่านการหมัก เช่น นม ชีส ผักหมักดอง โดยใส่เพื่อช่วยป้องกันอาหารเน่าเสีย และลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งได้รับการรับรองว่ามีความปลอดภัย นอกจากนี้ l*actobacilli* เป็นเชื้อที่พบในร่างกายมนุษย์ โดยสามารถตรวจพบในช่องปาก (10^3-10^4 CFU/g) ลำไส้เล็ก (10^3-10^7 CFU/g) ลำไส้ใหญ่ (10^4-10^8 CFU/g) และเป็นเชื้อหลักที่ช่องคลอด[51]

โพรไบโอติกจะอาศัยอยู่ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้นั้นจะต้องมีพื้นที่ในการยึดเกาะบนผิวเยื่อบุ การบริโภคโพรไบโอติกเป็นประจำนั้น ถ้าโพรไบโอติกมีปริมาณมากเกินพื้นที่ที่จะสามารถยึดเกาะอยู่ได้ก็จะถูกขับออกไปทางระบบทางเดินอาหารและขับออกสู่ร่างกายได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตราย แต่อย่างไรก็ตามควรเฝ้าระวังในเรื่องผลข้างเคียงในมนุษย์ที่อาจเกิดขึ้นได้จากการใช้โพรไบโอติก โดยเฉพาะในกลุ่มเด็กเล็ก กลุ่มผู้สูงอายุ กลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน ภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือที่ต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกันไว้ โดย WHO และ FAO ได้มีการกล่าวถึงผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกไว้ว่า โพรไบโอติกสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อทางระบบได้ เช่น การเกิดการติดเชื้อราเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งสามารถพบได้มากที่สุดหลังจากได้รับโพรไบโอติก *S. boulardii* หรือ การติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือด จากการได้รับโพรไบโอติก *L. acidophilus*, *L. casei* GG มีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่มากเกิน และเกิดการส่งผ่านของยีนส์ (Gene transfer)

จากการทดลองในสัตว์ทดลองเพื่อประเมินความปลอดภัยของโพรไบโอติก พบว่าหนูที่ภูมิต้านทานต่ำที่ได้รับเชื้อโพรไบโอติก *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei* GG และ *B.*

animalis มีความปลอดภัย[52] มีรายงานการเกิดผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกในมนุษย์เพื่อรักษาอาการท้องเสียจากเชื้อ *Clostridium* พบมีอาการทางระบบทางเดินอาหารได้ เช่น ปวดเกร็งที่ท้อง คลื่นไส้ ถ่ายนิ่ม (soft stool) มีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และอาจทำให้เกิดการรับรสชาติที่เปลี่ยนไป[53] จากการทบทวนวรรณกรรมของ Borriello และคณะ ในปี ค.ศ. 2003 พบว่าการได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกมีอันตรายหรือผลข้างเคียงน้อยมาก มีรายงานการติดเชื้อได้บ้าง เช่น การติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือด และติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจอักเสบพบเพียง 0.05% - 0.4% ของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ และไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อฉวยโอกาส ซึ่งการติดเชื้อส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวที่ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันต่ำ[51] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Floch ในปี ค.ศ. 2013 พบว่าโพรไบโอติกมีความปลอดภัยในการรับประทาน โดยไม่พบอันตรายจากการได้รับผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในคนที่มีสุขภาพแข็งแรง ยกเว้นในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยที่ต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกัน และเด็กแรกเกิดที่มีอายุครรภ์น้อยกว่า 37 สัปดาห์ พบผลข้างเคียงได้แต่น้อยมาก ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้ถือว่ามีความเสี่ยงสูงในการเกิดการติดเชื้อได้[54] สรุปได้ว่าความเสี่ยงในการเกิดผลข้างเคียงจากการบริโภคผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกขึ้นกับสุขภาพของผู้บริโภคเป็นสำคัญ จึงต้องมีความระมัดระวังในการใช้เป็นพิเศษ ส่วนคนที่มีสุขภาพแข็งแรงดียังไม่มีรายงานถึงผลข้างเคียง

จากการศึกษาที่ผ่านมาของโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ในนมผงที่มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^7 - 10^8 CFU/ml ไม่พบรายงานผลข้างเคียงจากการบริโภคโพรไบโอติกตลอดการศึกษาดังกล่าว[15, 16, 35] และการศึกษา *L. rhamnosus* SD11 ที่ผสมในโยเกิร์ตให้อาสาสมัครวัยรุ่นรับประทานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบรายงานผลข้างเคียงจากการบริโภคโพรไบโอติกตลอดการศึกษาดังกล่าวเช่นกัน[19]

การเก็บตัวอย่างแบคทีเรียในช่องปาก

การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจแบคทีเรียในช่องปากสามารถทำได้หลายวิธีซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน ขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน โดยสามารถเก็บได้จากแผ่นคราบจุลินทรีย์ทั้งคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือกและคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก และน้ำลายซึ่งเป็นตัวอย่างที่สามารถใช้เป็นตัวแทนในการตรวจหาสารหลายชนิดรวมทั้งเชื้อจุลชีพในช่องปากได้ จากการศึกษาของ Sullivan และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ของจำนวน mutans streptococci และ lactobacilli ในแผ่นคราบจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับในน้ำลาย พบว่าจำนวนของ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลายสามารถทำนายฟันผุได้ดีกว่าจากแผ่นคราบจุลินทรีย์[55]

ชนิดและวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลายมีดังต่อไปนี้

1. การเก็บน้ำลายโดยวิธีกระตุ้น (stimulated saliva)

เป็นการเก็บน้ำลายที่เกิดจากการกระตุ้น โดยอาจกระตุ้นด้วยการเคี้ยวแผ่นพาราฟิน หรือหมากฝรั่งที่ปราศจากน้ำตาล แล้วบ้วนน้ำลายเก็บในภาชนะที่สะอาดจนได้ปริมาณตามที่ต้องการ ข้อดี คือ การเคี้ยวทำให้เกิดการชะล้างจากบริเวณต่างๆ ในช่องปาก ทำให้เชื้อที่เพาะขึ้นเป็นตัวแทนที่ดีในช่องปาก วิธีนี้เหมาะสำหรับการตรวจที่ต้องการน้ำลายปริมาณมาก

2. การเก็บน้ำลายโดยไม่กระตุ้น (unstimulated saliva)

เป็นการเก็บน้ำลายที่ไม่ได้เกิดจากการกระตุ้นทำให้ได้โดยบ้วนเก็บน้ำลาย ในภาชนะที่แห้งสะอาดจนได้ปริมาณตามที่ต้องการ วิธีนี้อาจต้องใช้เวลาในการเก็บน้ำลายนานขึ้นกว่าการเก็บน้ำลายด้วยวิธีกระตุ้น

3. Spatula method

วิธีนี้สามารถที่จะใช้กับการเก็บน้ำลายโดยการกระตุ้นหรือการเก็บน้ำลายแบบไม่กระตุ้นก็ได้ การตรวจด้วยวิธีนี้ใช้ตัวอย่างน้ำลายเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สะดวกในการนำมาใช้กับผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือ เช่น เด็กเล็ก หรือผู้ป่วยที่มีน้ำลายน้อยด้วยสาเหตุจากโรคอื่น แต่ข้อเสีย คืออาจไม่ใช่ตัวแทนที่ดีเพื่อบอกชนิดของเชื้อในช่องปากทั้งหมด เพราะใช้ตัวอย่างตรวจน้อย แต่สามารถบอกชนิดของเชื้อที่มีมากกว่าเชื้ออื่นๆ ได้

4. Oral rinse method

เป็นการเก็บตัวอย่างเชื้อในน้ำลายและจากส่วนต่างๆ ในช่องปากโดยใช้สารละลาย เช่น ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline) หรือน้ำเกลือ ปริมาณ 10 มิลลิลิตรเป็นตัวชะล้าง ให้อมกลั้วปากเป็นเวลา 1 นาที แล้วบ้วนออกมา จากนั้นเก็บตัวอย่างตรวจในภาชนะแห้งสะอาด แล้วนำไปปั่นเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อต่อไป ดังนั้นจึงเป็นข้อดีของวิธีนี้ เนื่องจากได้เชื้อที่เป็นตัวแทนที่ดีจากทั่วทั้งปาก[56]

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. เพื่อประเมินและเปรียบเทียบผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli ในน้ำลายในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี
2. เพื่อประเมินและเปรียบเทียบผลของนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ต่อสภาวะฟันผุในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี
3. เพื่อประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

คำถามงานวิจัย

1. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีผลต่อเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli ในช่องปากในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปีหรือไม่
2. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีผลต่อสภาวะฟันผุในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปีหรือไม่
3. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 มีผลข้างเคียงต่ออาสาสมัครหรือไม่

สมมุติฐานงานวิจัย

1. นมผงโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli ในช่องปากของกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
2. นมผงโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงสภาวะฟันผุของกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
3. การรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ไม่มีผลข้างเคียงต่ออาสาสมัคร

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. นมผงปกติ
2. นมผงที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11
3. ชุดตรวจฟัน ประกอบด้วย probe WHO-621 explorer และ mouth mirror
4. ผ้าก๊อซ (Gauze) ขนาด 2x2 นิ้ว
5. อุปกรณ์หยิบผ้าก๊อซหรือสำลี
6. โคมไฟสนามส่องปาก
7. หลอดทดลองชนิดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร (centrifuge tube 50 ml.)
8. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline)
9. ไมโครไทเทอร์เพลทชนิด 96 ช่อง (Microtiter plate 98 well)
10. ไมโครปิเปตต์ทิป (micropipette tip)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis salivarius agar with bacitracin (Becton Dickinson and company, Sparks, MD 21152 USA) สำหรับเชื้อ mutans streptococci
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar (Conda, Pronadisa, Spain) สำหรับเชื้อ lactobacilli
13. ชุดสกัดดีเอนเอ Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan)
14. สารเคมีสำหรับการทำ DNA fingerprinting by arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

อุปกรณ์

1. ตู้บ่มเชื้อ ขนาด 400 ลิตร (Binder)
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ (Bench Top Centrifuge, MiKro 200)
3. หม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave: Tomy, Tokyo, Japan)
4. ชุดอุปกรณ์สำหรับการทำ DNA fingerprinting by arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

5. ไมโครปิเปต (Biohit proline)
6. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิด 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง (Sartorius analytic รุ่น E5500s: Scientific promotion Co., LTD, USA)

วิธีการดำเนินงานวิจัย

กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้ศึกษาในเด็กอายุระหว่าง 12-15 ปี ในชั้นมัธยมชั้นปีที่ 1-3 โรงเรียนจะ-นะชนูปถัมป์ อ. จะนะ จ. สงขลา เด็กนักเรียนและผู้ปกครองจะได้รับการชี้แจงข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษานี้ โดยนักเรียนและผู้ปกครองที่สนใจเข้าร่วมการศึกษาจะได้รับใบยินยอม และต้องลงนามในใบยินยอมเพื่อเข้าร่วมการศึกษา

การออกแบบการศึกษา

การศึกษานี้ได้ออกแบบการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและปกปิดสองทางเทียบกับกลุ่มควบคุม (double blinded randomized controlled trial study design) อาสาสมัครไม่ทราบว่าตัวเองอยู่กลุ่มศึกษาใด เนื่องจากลักษณะของนมผงในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมมีลักษณะเหมือนกัน อีกทั้งผู้วิจัยไม่ทราบว่านมผงที่กลุ่มตัวอย่างแต่ละคนได้รับเป็นกลุ่มใด โดยจะมีผู้ช่วยวิจัยเป็นผู้เตรียมนมผงสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัยตามการสุ่มเลือกกลุ่ม รวมทั้งผู้ตรวจฟันและเก็บน้ำลายจะไม่ทราบกลุ่มของผู้เข้าร่วมวิจัยที่ได้ตรวจ ในการวิจัยนี้เป็นการศึกษาทางคลินิกในขั้น phase II clinical trial ของสายพันธุ์โพรไบโอติกชนิดใหม่ โดยมีขั้นตอนการทำงานดังแผนภาพในรูปที่ 2

การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มตัวอย่างเป็นอิสระต่อกัน จึงใช้สูตรคำนวณขนาดตัวอย่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน ดังแสดง

$$N/group = \frac{2\sigma^2(Z_\alpha+Z_\beta)^2}{(\mu_1-\mu_2)^2}$$

โดยกำหนดค่าต่างๆดังต่อไปนี้

α = 0.05 (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

β = 0.20 (power = 80%)

μ_1-μ_2 = 0.9 เป็นความแตกต่างระหว่างปริมาณค่าเฉลี่ยของเชื้อ mutans streptococci ในกลุ่มศึกษา และกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Teanpaisan และคณะในปี 2015[16]

σ = 1.4 เป็นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างระหว่างกลุ่มศึกษา และกลุ่มควบคุม[16]

จากการแทนค่าสูตรดังกล่าวค่าข้างต้นจะได้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 37 คน โดยเมื่อเพิ่มกลุ่มตัวอย่างประมาณ 25 % เพื่อสำรองการลดลงของกลุ่มตัวอย่าง ดังนั้นกลุ่มที่จะทำการศึกษาคือ กลุ่มละ 50 คน

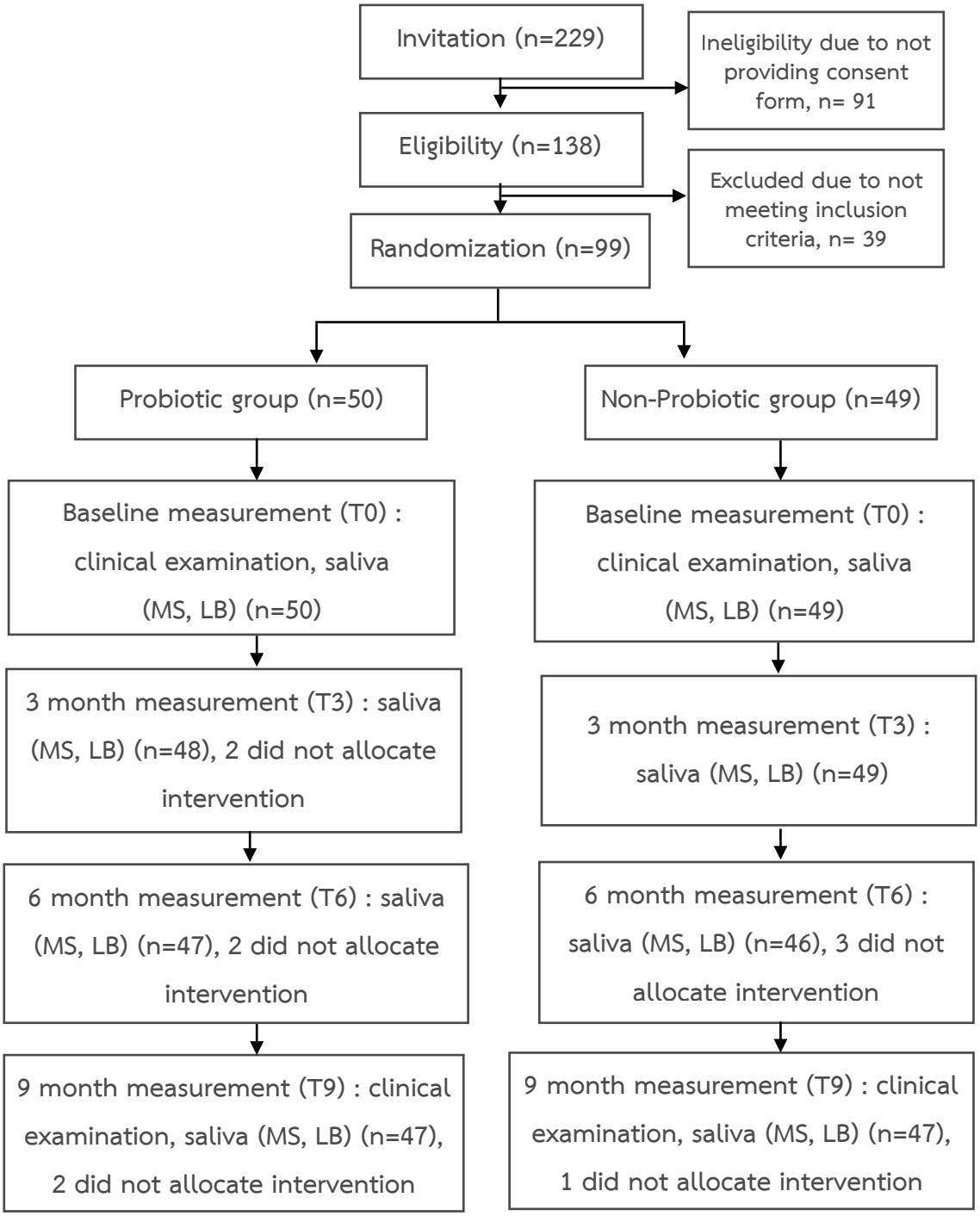
กลุ่มตัวอย่างและเกณฑ์คัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างในการศึกษาเป็นเด็กอายุระหว่าง 12-15 ปี โดยมีอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาจำนวน 99 คน เกณฑ์การคัดเข้ากลุ่มตัวอย่าง (Inclusion criteria) ได้แก่

1. ผู้เข้าร่วมโครงการเป็นเด็กอายุ 12-15 ปี ที่มีฟันแท้ขึ้น และไม่มีฟันน้ำนมแล้ว
2. อาสาสมัครเด็กมีค่าฟันผุเป็นรูไม่เกิน 3 ซี่
3. มีสุขภาพดี
4. อาสาสมัครยินดีเข้าร่วม และผู้ปกครองยินดีให้เข้าร่วมตลอดโครงการ

เกณฑ์การคัดออกกลุ่มตัวอย่าง (Exclusion criteria) ได้แก่

1. มีโรคทางระบบ เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน โรคมะเร็ง โรคเยื่อบุหัวใจอักเสบ โรคหัวใจรูมาติก เป็นต้น
2. มีประวัติแพ้นมวัวและหรือน้ำตาลแลคโตส
3. มีประวัติใช้ยาต้านจุลชีพมาก่อนเข้าร่วมโครงการในเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์
4. มีประวัติรับประทานผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก หรือไซลิทอลเป็นประจำ



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานในการศึกษาวิจัย

การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง (Random allocation)

เด็กจำนวน 99 คนที่ให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและเข้าเกณฑ์การคัดเข้าจะได้รับสุ่มเข้ากลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุมด้วยวิธีการสุ่มแบบแบ่งชั้น (stratified randomization) โดยใช้ปริมาณ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นเป็นตัวกำหนดแต่ละชั้น เพื่อให้กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่า mutans streptococci ใกล้เคียงกัน ในแต่ละชั้นจะทำการสุ่มแบ่งกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี simple randomization โดยการใช้ตัวเลขสุ่ม (random number) ด้วยโปรแกรม research randomizer ได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

ตัวอย่างกลุ่มที่ 1 กลุ่มโพรไบโอติกซึ่งได้รับนมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

ตัวอย่างกลุ่มที่ 2 กลุ่มควบคุมซึ่งได้รับนมผงปกติ

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรต้น คือ
   - การได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11
2. ตัวแปรตาม คือ
   - จำนวนเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ในช่องปาก
   - สภาวะฟันผุในช่องปาก
   - ผลข้างเคียงจากการรับประทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

การเตรียมผลิตภัณฑ์ที่ผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

การระบุเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 เพื่อใช้ในการเตรียมนมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 จะถูกระบุโดยใช้วิธีการ Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RELP) และ sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis ในการวิจัยนี้เป็นการศึกษาทางคลินิกในขั้น phase II clinical trial ของสายพันธุ์โพรไบโอติกชนิดใหม่

- การเตรียมนมผงผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

เตรียมโดยกระบวนการ spray dry ตามขั้นตอนการเตรียมนมผงผสมโพรไบโอติก การเตรียมและทดสอบมาตรฐานของนมผงที่ใช้ในการศึกษา ดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยเตรียมนมผงที่มีโพรไบโอติก ซึ่งมีเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในนมผงปริมาณ 10^7 CFU/ml ส่วนนมผงควบคุมไม่มีจุลินทรีย์ใดๆ

การรับประทานนมและติดตามผลข้างเคียงจากการใช้นมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11

เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับนมผงที่ทางคณะวิจัยได้เตรียมไว้ให้ตามซื่อของตนไม่สลับหรือแลกเปลี่ยนกัน ปริมาณ 5 กรัม/วัน โดยผสมน้ำประมาณ 100 มิลลิลิตร และดื่มทุกวัน วันละ 1 ครั้ง วันจันทร์ถึงศุกร์รับประทานที่โรงเรียน และแจกให้เด็กกลับไปรับประทานที่บ้านในวันเสาร์อาทิตย์ และนำถุงกลับมาคืนที่คุณครู จากนั้นรวบรวมส่งให้ผู้วิจัยเพื่อเป็นการตรวจสอบความร่วมมือในการบริโภคนมของกลุ่มอาสาสมัคร รวมระยะเวลาทั้งหมด 3 เดือน และทางผู้วิจัยจะมีการกำหนดให้คุณครูจดบันทึกการรับประทานนมของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษาทุกวัน รวมทั้งมีการติดตามอาการแพ้และผลข้างเคียงจากการรับประทานนมตลอดการศึกษา หากเด็กมีอาการแพ้หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากนมที่ได้รับ เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน มีน้ำลายมาก ปวดท้อง ท้องเสีย มีผื่นแพ้ คุณครูและผู้ปกครองสามารถให้เด็กหยุดทานรับประทานนมได้และลงบันทึกข้อมูลอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นแล้วแจ้งให้ทางคณะวิจัยทราบได้ทันทีเพื่อให้ทางคณะผู้วิจัยได้ตรวจสอบ และทำการแก้ไขปัญหา

การเก็บข้อมูลและบันทึกผล

หลังจากได้ผู้เข้าร่วมการศึกษาและได้รับการยินยอมแล้ว ผู้ร่วมการศึกษาจะได้รับการซักและบันทึกประวัติทั่วไป ประวัติทางการแพทย์ ประวัติการแพ้ยา และเก็บข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ การตรวจฟัน เก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่เวลาเริ่มต้น

จากนั้นเมื่อรับประทานนมครบ 3 เดือน และหยุดรับประทานนมได้ 3 เดือน จะได้รับการเก็บตัวอย่างน้ำลายอีกครั้ง หลังจากนั้นเมื่อหยุดรับประทานนมได้ 6 เดือน จะได้รับการตรวจฟัน และเก็บตัวอย่างน้ำลาย นอกจากนี้ติดตามอาการข้างเคียงจากการรับประทานนมตลอดการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจ และการเก็บข้อมูลที่เวลาต่างๆในการศึกษา

การตรวจและเก็บข้อมูล	เวลา				
	T0	I	T3	T6	T9
ตรวจฟัน	/				/
การเก็บน้ำลายสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ	/		/	/	/
สำรวจอาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้จากการทานนม		/			

หมายเหตุ : T0 คือ เวลาเริ่มต้น

I คือ ช่วงทานนมติดต่อกันทุกวันตลอด 3 เดือน

T3 คือ เดือนที่ 3

T6 คือ เดือนที่ 6

T9 คือ เดือนที่ 9

การตรวจฟัน

การตรวจฟันจะตรวจด้วยกระจกส่องปาก และ probe WHO-621 ภายใต้แสงจากโคมไฟสนามส่องปากโดยใช้เกณฑ์การตรวจดัดแปลงมาจากเกณฑ์การตรวจและประเมินโรคฟันผุด้วยระบบ The international caries detection and assessment system (ICDAS) ปี ค.ศ. 2009[57] (ตารางที่ 3) เพื่อเพิ่มการตรวจในส่วนของรอยโรคฟันผุในระยะที่ยังไม่เกิดรู และมีการบันทึกการดำเนินของโรคฟันผุ (caries activity) คือ รอยผุกำลังลุกลาม (active) และรอยผุหยุดยั้ง (inactive) ทำการตรวจฟันโดยทันตแพทย์ จำนวน 3 คน ได้รับการปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจซ้ำในบุคคลเดียวกัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.81-0.93 และทำการปรับมาตรฐานระหว่างผู้ตรวจเพื่อทดสอบความเที่ยงในการตรวจฟันระหว่างผู้ประเมิน (inter-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.84-0.85 ก่อนเริ่มการศึกษา และทำซ้ำก่อนตรวจอีกครั้งที่ 9 เดือน

การเปลี่ยนแปลงของสภาวะโรคฟันผุในช่องปาก แบ่งออกเป็น 3 แบบ

1. การคงที่ของสภาวะฟันผุ (stable) หมายถึงการดำเนินของรอยโรคที่คงที่ ที่เวลาเริ่มต้น (T0) และที่เวลา 9 เดือน มีคะแนนการตรวจฟันเท่าเดิม

2. การลุกลามของรอยโรคฟันผุ (progression) หมายถึง มีการดำเนินของรอยโรคที่มากขึ้น เช่น ฟันปกติที่เวลาเริ่มต้น จากนั้นที่เวลา 9 เดือน พบมีรอยฟันผุไม่เป็นรูหรือเป็นรู หรือมีฟันผุที่ลุกลามมากขึ้น
3. การคืนกลับของรอยโรคฟันผุ (regression) หมายถึง มีการดำเนินของรอยโรคลดลงโดยมีการคืนกลับของแร่ธาตุ เช่น เปลี่ยนแปลงจากฟันผุคะแนน 1 (active distinct visual change in enamel) ที่เวลา T0 ไปเป็นผุคะแนน 2 (inactive distinct visual change in enamel) ที่เวลา T9

Surface at risk คือ จำนวนด้านของฟันที่ขึ้นในช่องปากที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุ

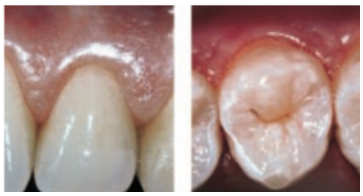
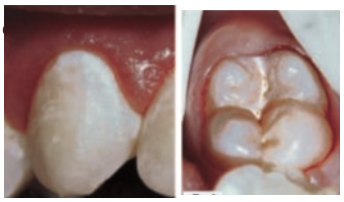
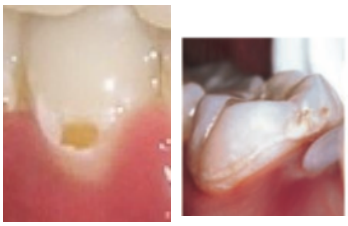
Transitional probability คือความน่าจะเป็นของการเปลี่ยนแปลงสภาวะฟันผุ

= (จำนวนด้าน x 100) / surface at risk

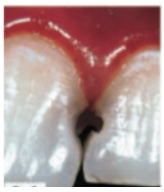
ตารางที่ 3 แสดงเกณฑ์การตรวจฟันผุ (ปรับปรุงจาก ICDAS, 2009)

ICDAS Lay Terms	ICDAS Score	ICDAS Dental Terms	ICDAS Activity + (active) / - (inactive)	Modified ICDAS
Sound	**0**	Sound		**0**
Early Stage Decay	**1**	First visual change in enamel (when dry)		
	2	Distinct visual change in enamel	**+**	**1**
		Distinct visual change in enamel	**-**	**2**
Established Decay	**3**	Localized enamel breakdown	**+**	**3**
		Localized enamel breakdown	**-**	**4**
	4	Underlying dentine shadow		**5**
Severe Decay	**5** **6**	Distinct cavity with visible dentine Extensive cavity within visible describe	**+**	**6**
	5 **6**	Distinct cavity with visible dentine Extensive cavity within visible describe	**-**	**7**

ตารางที่ 4 แสดงการประเมินลักษณะการดำเนินรอยผุตามเกณฑ์ ICDAS

ระดับ	คำจำกัดความ	ระยะการดำเนินโรค	ลักษณะทางคลินิก
0	Sound 		ฟันที่มีสีและผิวเคลือบฟันปกติ
1	Distinct visual change in 	+	ผิวเคลือบฟันเป็นสีขาวขุ่นหรือเหลือง สูญเสียความเป็นมันวาว เมื่อใช้ probe ลากผ่านรู้สึกขรุขระ มักพบบริเวณที่มีคราบจุลินทรีย์ปกคลุม ไม่มีการสูญเสียผิวฟัน
2	Distinct visual change in enamel	-	ผิวเคลือบฟันมีสีขาว สีน้ำตาล หรือสีดำ ผิวเคลือบฟันเป็นมันวาว เมื่อใช้ probe ลากผ่านจะรู้สึกแข็งและเรียบหรือขรุขระแต่ไม่มีพื้นนิ่ม ไม่มีการสูญเสียผิวเคลือบฟัน
3	Localized enamel breakdown 	+	ผิวเคลือบฟันเป็นสีขาวขุ่นหรือเหลือง สูญเสียความเป็นมันวาว มีการสูญเสียผิวเคลือบฟันเป็นรูเล็กๆ (microcavity) เฉพาะที่ชั้นผิวเคลือบฟัน
4	Localized enamel breakdown	-	ผิวเคลือบฟันมีสีขาว สีน้ำตาล หรือสีดำ ผิวเคลือบฟันเป็นมันวาว มีการสูญเสียผิวฟันเป็นรูเล็กๆ (microcavity) เฉพาะที่ชั้นผิวเคลือบฟัน เมื่อใช้ probe ลากผ่านจะรู้สึกแข็งไม่มีพื้นนิ่ม

ตารางที่ 4 แสดงการประเมินลักษณะการดำเนินรอยผุตามเกณฑ์ ICDAS (ต่อ)

ระดับ	คำจำกัดความ	ระยะการดำเนินโรค	ลักษณะทางคลินิก
5	Underlying dentine shadow		มองเห็นเป็นเงาดำในชั้นเนื้อฟัน
6	Cavitated caries 	+	มองเห็นรอยผุที่ชั้นเคลือบฟัน และเนื้อฟันเป็นโพรงด้วยตาเปล่า เมื่อใช้ probe ลากผ่านผนังรอยผุรู้สึกนิ่ม อาจจะทะลุหรือไม่ทะลุโพรงประสาทฟัน
7	Cavitated caries	-	มองเห็นรอยผุที่ชั้นเคลือบฟัน และเนื้อฟันด้วยตาเปล่า ผิวของรอยผุเป็นมันวาว เมื่อใช้ probe ลากผ่านจะรู้สึกแข็ง ไม่มีส่วนนิ่มไม่ทะลุโพรงประสาทฟัน
8	Extraction because of caries		ฟันที่ถูกถอนเนื่องจากฟันผุ
9	Filled, restored		ฟันที่ตรวจพบว่ามีรอยวัสดุบูรณะ ครอบฟัน
S	Sealant		ฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟัน
U	Unerupt		ฟันยังไม่ขึ้น
P	Partial erupted		ฟันด้านนั้นยังไม่โผล่พ้นเหงือก (partial erupted) หรือพ้นเล็กน้อย ไม่สามารถ score ได้
88	ตรวจไม่ได้		ไม่สามารถตรวจได้ เช่น ฟันหายไปด้วยสาเหตุอื่นๆ (missing, trauma, ฟันหลุดตามอายุ)
H	Hypoplasia		ผิวฟันผิดปกติโดยไม่มีรอยผุ
F	Fluorosis		

วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลาย

การเก็บตัวอย่างน้ำลายใช้วิธีการเก็บน้ำลายโดยไม่กระตุ้น โดยทันตแพทย์ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลาย ให้ผู้เข้าร่วมศึกษาบ้วนน้ำลายในภาชนะที่แห้งสะอาดปริมาณ 3-5 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างน้ำลายไปเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารต่อไป

การเพาะเลี้ยงเชื้อและนับจำนวนเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจะนำน้ำลายที่ได้มาเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ 1:10, 1:100, 1:1,000 และ 1:10,000 หลังจากนั้นแบ่งมา 10 µl ในแต่ละอัตราส่วนมาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาหารคัดเลือกชนิดแบคทีเรียสำหรับ mutans streptococci คือ Mitis salivarius bacitracin agar ทำการเลี้ยงเชื้อ mutans streptococci ใน candle jar อาหารคัดเลือกชนิดเชื้อแบคทีเรียสำหรับ lactobacilli คือ Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Becton, Dickinson Company (BD), Claix, France) ทำการเลี้ยงเชื้อ lactobacilli ใน anaerobic chamber ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

โคโลนีของเชื้อต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกจำแนกตามรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า และนับจำนวนโคโลนี และคำนวณตามอัตราส่วนการเจือจางข้างต้นโดยค่าที่ออกมาจะเป็น colony-forming unit per milliliter (CFU/ml)

การตรวจนับเชื้อทำโดยผู้ตรวจนับเชื้อ 1 คน ที่ได้รับการปรับมาตรฐานผู้ตรวจกับผู้เชี่ยวชาญภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีค่า kappa เท่ากับ 0.79 และปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจซ้ำในบุคคลเดียวกัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.89

การควบคุมคุณภาพของข้อมูล

1. การควบคุมคุณภาพโดยทำการปกปิดสองทาง (double blind) คือ อาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษาจะไม่ทราบว่าตัวเองอยู่กลุ่มใด เนื่องจากลักษณะของนมผงที่มีเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 และไม่มีเชื้อโพรไบโอติกมีลักษณะเดียวกัน ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ โดยมีผู้

ช่วยวิจัยเป็นผู้เตรียมนมสำหรับอาสาสมัครตามการสุ่มเลือกกลุ่ม และผู้ตรวจฟันและเก็บน้ำลายจะไม่ทราบว่าอาสาสมัครที่ได้รับการตรวจอยู่ในกลุ่มใด

2. การตรวจฟันโดยผู้เชี่ยวชาญ 3 คน ได้รับการปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจซ้ำในบุคคลเดียวกัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.81-0.93 และระหว่างผู้ประเมิน (inter-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.84-0.85 ก่อนเริ่มการศึกษาเพื่อทดสอบความเที่ยงในการตรวจฟัน

3. การตรวจระดับปริมาณเชื้อทำโดยผู้ตรวจนับเชื้อ 1 คน ที่ได้รับการปรับมาตรฐานผู้ตรวจกับผู้เชี่ยวชาญภาคโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีค่า kappa เท่ากับ 0.79 และปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจซ้ำในบุคคลเดียวกัน (intra-examiner reliability) มีค่า kappa เท่ากับ 0.89

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ข้อมูลโดยทั่วไปของผู้ป่วย ปริมาณเชื้อ mutans streptococci และเชื้อ lactobacilli ผลข้างเคียงจากการทานนม

2. เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และความแตกต่างของจำนวนซี่ฟันผุ ระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม โดยทดสอบ normality test ด้วย Shapiro-Wilk test พบข้อมูลมีการแจกแจงไม่ปกติใช้สถิติ Mann-Whitney U-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli ระหว่างค่าเริ่มต้น (T0) กับ 3 เดือน (T3) 6 เดือน (T6) และ 9 เดือน (T9) โดยใช้ Wilcoxon signed rank test ตามด้วย the post hoc test (Bonferroni)

4. สถิติ Multivariable logistic regression เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการลดลงของเชื้อ mutans streptococci

5. หาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการเปลี่ยนแปลงสภาวะโรคฟันผุโดยใช้สถิติการทดสอบ chi-square test

จรรยาบรรณของผู้วิจัยการตรวจสอบจริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้ได้นำเสนอเพื่อการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมของคณะทันต-แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ก่อนเริ่มทำงานวิจัย (EC5912-51-L-HR) และลงทะเบียนใน Thai Clinical Trials Registry (TCTR20170601002) (ภาคผนวก)

บทที่ 3

ผลการวิจัย

จากเด็กจำนวน 229 คน ได้รับความยินยอม และผ่านเกณฑ์การคัดเข้าทั้งหมด 99 คน (เพศหญิง 54 คน เพศชาย 45 คน) อายุอยู่ในช่วง 12-15 ปี โดยมีอายุเฉลี่ย 13.10 ± 1.03 ปี แบ่งเป็นกลุ่มโพรไบโอติก 50 คน และกลุ่มควบคุม 49 คน หลังจากสิ้นสุดระยะเวลา 9 เดือน พบว่ามีอาสาสมัครจำนวน 10 คน (ร้อยละ 10.10) ที่ไม่สามารถเข้าร่วมการศึกษาได้ครบตามกำหนดในทุกๆ ระยะเวลาเป็นเวลาทั้งสิ้น 9 เดือน เนื่องจากมีเด็กบางส่วนย้ายออกจากโรงเรียน เด็กขาดเรียนในวันที่เก็บน้ำลายและหรือตรวจฟัน เป็นต้น โดยอยู่ในกลุ่มโพรไบโอติก 6 คน (ร้อยละ 6.06) และกลุ่มควบคุม 4 คน (ร้อยละ 4.04) (รูปที่ 2)

จากการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า เพศ อายุเฉลี่ยของทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่ากลางของระดับปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลายที่เวลาเริ่มต้น รวมทั้งจำนวนฟัน จำนวนด้านฟันผุ และจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (p-value > 0.05) และมีค่าฟันผุเป็นรูสอดคล้องกับเกณฑ์การคัดเข้า (ตารางที่ 5, 6)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนและร้อยละของเพศ และแสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุของกลุ่มตัวอย่าง โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น (T0)

	Total **n = 99**	**Probiotic group** **n = 50**	**Control group** **n = 49**	**p-value**
Gender †				
- **Male N (%)**	45 (100)	26 (57.78)	19 (42.22)	0.186
- **Female N (%)**	54 (100)	24 (44.44)	30 (55.56)	
Age (year), (mean ± SD) ʊ	13.10 ± 1.03	13.2 ± 0.95	13 ± 1.08	0.204

† สถิติการทดสอบ Chi-square test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ʊ สถิติการทดสอบ Independent T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ากลางและ 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci เชื้อ lactobacilli และจำนวนด้านฟันผุ โดยแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น (T0)

	Probiotic group n = 50		Control group n = 49		*p*-value
	mean ± SD	median (95%CI)	mean ± SD	median (95%CI)	
Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml.) €	3.23 ± 1.84	3.83 (3.39, 4.18)	3.09 ± 1.91	3.74 (3.30, 4.11)	0.819
Lactobacilli at T0 (log_{10}CFU/ml.) €	7 ± 0.79	6.78 (6.60, 7.10)	6.90 ± 0.58	6.74 (6.60, 7.06)	0.809
Non-cavitated caries (tooth)€	2.84 ± 3.22	2 (1,3)	4.16 ± 4.11	4 (1,5)	0.116
Cavitated caries (tooth)€	0.84 ± 1.13	0 (0,1)	1.10 ± 1.36	0 (0,1)	0.444
Sound (surface)€	111.18 ± 10.86	113 (109,116)	109.96 ±12.80	113 (110,115)	0.817
Non-cavitated caries (surface) €	4.42 ± 4.57	3 (2,4)	6.16 ± 6.24	5 (2,7)	0.188
Cavitated caries (surface) €	1.54 ± 1.99	1 (0,2)	1.55 ± 1.84	1 (0,2)	0.897

€ สถิติการทดสอบ Mann-whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value < 0.05)

Sound หมายถึง ผิวฟันปกติ คะแนน 0

Non-cavitated caries หมายถึง การรวมฟันผุคะแนน 1 และ 2

Cavitated caries หมายถึง การรวมฟันผุคะแนน 3 4 5 6 และ 7

ปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli

เมื่อกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมได้รับนมครบปีนเวลา 3 เดือน จากการตรวจเชื้อ mutans streptococci พบว่า ที่เวลา 3 เดือน กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อ mutans streptococci น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) และเมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มโพรไบโอติกพบว่า ที่เวลา 3 เดือน ปริมาณเชื้อ mutans streptococci ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเริ่มต้น และพบแนวโน้มการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ที่เวลา 6 เดือนเช่นกัน แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มควบคุมไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ mutans streptococci ในทุกช่วงเวลา (ตารางที่ 8) ส่วนข้อมูลการตรวจเชื้อ lactobacilli ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณเชื้อ lactobacilli ระหว่างกลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุมตลอดการศึกษา (ตารางที่ 7, 8)

เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่งมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.04) (ตารางที่ 9) จากนั้นนำปัจจัยระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้น มาทำการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้าย พบว่า ระดับเชื้อ mutans streptococci ในระดับสูงกว่าที่เวลาเริ่มต้น จะมีโอกาสพบการลดลงของปริมาณเชื้อ mutans streptococci ที่เวลา 3 เดือนได้ 16.705 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นในระดับที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่าปัจจัยระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นเป็นปัจจัยสำคัญต่อการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ภายหลังจากการได้รับโพรไบโอติก (ตารางที่ 10) โดยพบว่าเชื้อ mutans streptococci จะลดลงได้ดีเมื่อมีระดับเชื้อ mutans streptococci เริ่มต้นอยู่ในระดับกลาง (ตั้งแต่ 3 $\log_{10}$CFU/ml ถึงน้อยกว่า 5 $\log_{10}$CFU/ml)

ตารางที่ 7 แสดงค่ากลาง ค่า 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 6 เดือน และ 9 เดือน (เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม)

Time	Group	Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml.) median (95% CI)	*p*-value	Lactobacilli (log_{10}CFU/ml.) median (95% CI)	*p*-value
T0	Probiotic (n=50)	3.83 (3.39, 4.18)	0.754	6.78 (6.60, 7.10)	0.710
	Control (n=49)	3.74 (3.30, 4.11)		6.74 (6.60, 7.06)	
T3	Probiotic (n=48)	3 (0, 3.48)	0.045*	6.77 (6.60, 7.08)	0.707
	Control (n=49)	3.81 (3.18,4.18)		6.85 (6.55, 7.06)	
T6	Probiotic (n=47)	3.18 (2.70, 3.70)	0.365	6.70 (6.60, 6.81)	0.383
	Control (n=46)	3.65 (3.00, 4.00)		6.83 (6.60, 7.13)	
T9	Probiotic (n=47)	3.48 (3.00, 3.74)	0.459	6.65 (6.51, 6.90)	0.331
	Control (n=47)	3.65 (3.18, 4.06)		6.78 (6.60, 6.93)	

เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มในเวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ Mann-whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value < 0.05)

ตารางที่ 8 แสดงค่ากลาง ค่า 95% CI ของปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ที่เวลาเริ่มต้น (T0) 3 เดือน (T3) 6 เดือน (T6) และ 9 เดือน (T9) (เปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกัน)

Group	Time	Mutans streptococci (log_{10}CFU/ml.) median (95% CI)	*p*-value	Lactobacilli (log_{10}CFU/ml.) median (95% CI)	*p*-value
Probiotic	T0	3.83 (3.39, 4.18)		6.78 (6.60, 7.10)	
	T3	3 (0, 3.48)	0.000 *	6.77 (6.60, 7.08)	0.093
	T6	3.18 (2.70, 3.70)	0.022	6.70 (6.60, 6.81)	0.044
	T9	3.48 (3.00, 3.74)	0.065	6.65 (6.51, 6.90)	0.038
Control	T0	3.74 (3.30, 4.11)		6.74 (6.60, 7.06)	
	T3	3.81 (3.18,4.18)	0.236	6.85 (6.55, 7.06)	0.955
	T6	3.65 (3.00, 4.00)	0.410	6.83 (6.60, 7.13)	0.969
	T9	3.65 (3.18, 4.06)	0.510	6.78 (6.60, 6.93)	0.065

- จำนวนตัวอย่างของกลุ่มโพรไบโอติกเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 48 คน เวลา T0 กับ T6 = 47 คน และ T0 กับ T9 = 47 คน
- จำนวนตัวอย่างของกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลา T0 กับ T3 = 49 คน T0 กับ T6 = 46 คน และ เวลา T0 กับ T9 = 47 คน

เปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆกับค่าที่เวลาเริ่มต้นโดยใช้สถิติ Wilcoxon signed rank test ตามด้วย Bonferroni correction significance level of $\alpha < 0.05/6 = p\text{-value} < 0.0083$

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value < 0.0083)

ตารางที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น (T0) ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3)

Group	Reduce mutans streptococci count	
	Yes (%)	No (%)
Probiotic group (n=44)	21 (47.73)	23 (52.27)
Control group (n=45)	12 (26.67)	33 (73.33)

สถิติการทดสอบ Chi-square test (p-value = 0.040)

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นและ 3 เดือน

Variables	OR (95%CI)	p-value
Group		
• **probiotic**	3.36 (1.145,9.861)	0.027 *
• **control**	Ref.	
Level of mutans streptococci at T0 [€]	16.705 (3.683,75.757)	0.000 *

[€] ระดับของเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นแบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่

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

Ref. คือ กลุ่มอ้างอิง

ข้อมูลการตรวจฟันของกลุ่มตัวอย่าง

จากการตรวจฟันตามเกณฑ์การตรวจฟันที่ปรับปรุงจาก ICDAS 2009 (ตารางที่ 4) ที่ระยะเวลาเริ่มต้น (T0) โดยตรวจฟันทุกซี่ ทุกด้านในช่องปาก พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีด้านฟันทั้งหมด 5,945 ด้าน ส่วนใหญ่ร้อยละ 93.51 ของด้านฟันทั้งหมด มีผิวฟันปกติ (sound tooth) รองลงมาคือ มีฟันผุในระยะเริ่มต้น (non-cavitated caries : คะแนน 1 และ 2) พบร้อยละ 3.57 ของด้านฟันทั้งหมด และที่พบส่วนน้อยคือ ฟันผุเป็นรู (cavitated careis : คะแนน 3 4 5 6 และ 7) พบร้อยละ 1.30 ของด้านฟันทั้งหมด

กลุ่มควบคุมมีด้านฟันทั้งหมด 5,851 ด้าน พบว่ามีส่วนใหญ่ร้อยละ 92.27 ของด้านฟันทั้งหมดเป็นผิวฟันปกติ (sound tooth) รองลงมาคือ มีฟันผุในระยะเริ่มต้น (non-cavitated caries : คะแนน 1 และ 2) พบร้อยละ 5.16 ของด้านฟันทั้งหมด และที่พบส่วนน้อยคือ ฟันผุเป็นรู (cavitated careis : คะแนน 3 4 5 6 และ 7) พบร้อยละ 1.30 ของด้านฟันทั้งหมด

ที่ระยะเวลา 9 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนด้านฟันเนื่องจากมีฟันขึ้นมาในช่องปากมากขึ้นและมีอาสาสมัครลดลงเนื่องจากไม่สามารถเข้าร่วมการศึกษาได้ครบตามกำหนด โดยมีลักษณะฟันผุตามเกณฑ์การตรวจฟันตามตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงร้อยละจำนวนด้านฟันผุระดับต่างๆที่เวลาเริ่มต้น (T0) และ 9 เดือน (T9)

Tooth surface status	No. of tooth surface (%) at baseline		No. of tooth surface (%) at 9 months	
	Probiotic group (n=5,945 surface)	Control group (n=5,851 surface)	Probiotic group (n=5,648 surface)	Control group (n=5,686 surface)
Code 0, sound surface	5,559(93.51)	5,340(91.27)	5,303(93.89)	5,201(91.47)
Code 1, active enamel caries surface	179(3.01)	254(4.34)	181(3.20)	261(4.59)
Code 2, inactive enamel caries surface	33(0.56)	48(0.82)	41(0.73)	69(1.21)
Code 3, active localized enamel breakdown surface	9(0.15)	24(0.41)	9(0.16)	25(0.44)
Code 4, inactive localized enamel breakdown surface	19(0.32)	13(0.22)	21(0.37)	16(0.28)
Code 5, underlying dentine shadow surface	2(0.03)	4(0.07)	7(0.12)	4(0.07)
Code 6, active dentine cavitated surface	46(0.77)	35(0.60)	45(0.80)	40(0.70)
Code 7, inactive dentine cavitated surface	1(0.02)	0	2(0.04)	1(0.02)

การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโรคฟันผุในช่องปาก

เมื่อสิ้นสุดการศึกษาที่ระยะเวลา 9 เดือนได้ทำการเปรียบเทียบสภาวะโรคฟันผุกับที่เวลาเริ่มต้น ในกลุ่มโพรไบโอติก 47 คน และกลุ่มควบคุม 47 คน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงรอยโรคฟันผุส่วนใหญ่ คือ การคงที่ของสภาวะโรคฟันผุ (stable) เมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น โดยในกลุ่มโพรไบโอ-ติกมีค่ากลางของด้านที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรอยโรคฟันผุเท่ากับ 119 (95%CI : 117,123) ด้านต่อคน และกลุ่มควบคุมเท่ากับ 119 (95%CI : 115,122) ด้านต่อคน (ตารางที่ 12) ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีค่าการคงที่ของรอยโรคฟันผุที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การลุกลามของรอยโรคฟันผุพบว่าในกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมมีค่ากลางการลุกลามเท่ากันคือ 0 (95%CI : 0,1) ด้านต่อคน (ตารางที่ 12) ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีค่าการลุกลามของรอยโรคฟันผุที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รูปแบบการลุกลามส่วนใหญ่คือ การเปลี่ยนแปลงจากฟันปกติเปลี่ยนไปเป็นฟันผุคะแนน 1 (active distinct visual change in enamel) และ 2 (inactive distinct visual change in enamel) ตามลำดับ

การคืนกลับของรอยโรคฟันผุพบว่าในกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงจากฟันผุคะแนน 1 (active distinct visual change in enamel) ไปเป็นผุคะแนน 2 (inactive distinct visual change in enamel) ได้แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับโพรไบโอติกกับการลุกลามของรอยโรคฟันผุ (progression) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.148) (ตารางที่ 13) จากนั้นจึงนำปัจจัยระดับฟันผุเป็นรูที่เวลาเริ่มต้นมาทำการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้าย พบว่าจำนวนด้านฟันผุเป็นรูที่เวลาเริ่มต้นไม่เป็นปัจจัยต่อการลุกลามของรอยโรคฟันผุเมื่อได้หรือไม่ได้รับโพรไบโอติก (ตารางที่ 14)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (ds0) กับที่เวลา 9 เดือน (ds9) พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมมีจำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (ds0) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อมาที่เวลา 9 เดือนพบว่าจำนวนด้านฟันผุระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (△ds) พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีการเกิดฟันผุใหม่น้อยกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อติดตามที่เวลา 9 เดือน (ตารางที่ 15)

ไม่มีรายงานผลข้างเคียงจากการรับประทานนมตลอดการศึกษา

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย ค่ากลางและ 95% CI ของจำนวนด้านฟันที่มีการเปลี่ยนแปลงด้านฟันผุที่เวลา 9 เดือน (T9) เมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น

Caries change	Probiotic		Control		
	mean ± SD	median (95%CI)	mean ± SD	median (95%CI)	*p*-value
Progress	0.89 ± 1.45	0 (0,1)	1.27 ± 1.77	0 (0,1)	0.452
Stable	116.96 ± 10.36	119 (117,123)	116.93 ± 10.60	119 (115,122)	0.736
Regress	0.06 ± 0.32	0 (0,0)	0.11 ± 0.37	0 (0,0)	0.412

สถิติการทดสอบ Mann-whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value < 0.05)

ตารางที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการลุกลามของรอยโรคฟันผุที่เวลาเริ่มต้นและที่เวลา 9 เดือน กับการได้รับโพรไบโอติก

Group	Caries progression	
	Yes n(%)	No n(%)
Probiotic group (n=47)	19 (40.43)	28 (59.57)
Control group (n=47)	26 (55.32)	21 (44.68)

สถิติการทดสอบ chi-square test (*p*-value เท่ากับ 0.148)

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฟันผุที่เวลาเริ่มต้นและ 9 เดือน กับการได้รับโพรไบโอติก

Variables	OR (95%CI)	*p*-value
Group		
• **probiotic**	0.548 (0.242,1.242)	0.150
• **control**	Ref.	
Cavitated caries †	1.577 (0.941,2.645)	0.084

† จำนวนฟันผุเป็นรู (คะแนน 3 4 5 6 และ 7) ที่เวลาเริ่มต้นแบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่

- 1 ไม่มีฟันผุที่เป็นรู
- 2 มีจำนวนด้านฟันเป็นรู 1-2 ด้าน
- 3 มีจำนวนด้านฟันปกติ 3-9 ด้าน

ตารางที่ 15 แสดงค่ากลางและ 95% CI ของจำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (T0) ที่เวลา 9 เดือน (T9) และจำนวนด้านฟันที่เกิดการผุขึ้นใหม่ในช่วงเวลา 9 เดือน (△ds)

	Probiotic n=47	**Control n=47**	*p*-value
Decayed surface at baseline (ds0)	5 (3,6)	6 (3,9)	0.304
Decayed surface at 9 months of study (ds9)	6 (4,8)	8 (6,10)	0.040 *
Increase of decayed surface (△ds)	0 (0,1)	1 (0,2)	0.048 *

สถิติการทดสอบ Mann-whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value < 0.05)

บทที่ 4

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ประกอบด้วยกลุ่มอาสาสมัครจำนวน 99 คน ที่โรงเรียนจะนะชนูปถัมป์ อ. จะนะ จ. สงขลา อาสาสมัครให้ความร่วมมือดีในการรับประทานนม และการเก็บตัวอย่างน้ำลายทั้ง 2 กลุ่ม โดยมีอาสาสมัคร 10 คน (ร้อยละ10.10) ที่ไม่สามารถเข้าร่วมการศึกษาได้ครบตามกำหนด ซึ่งน้อยกว่าการสำรองการลดลงของอาสาสมัคร

การศึกษานี้ได้มีการกำหนดเกณฑ์การคัดออกคือ อาสาสมัครที่มีฟันผุในช่องปากมากกว่า 3 ซี่ เนื่องจากการศึกษาของ Pahumunto และคณะ ได้เปรียบเทียบการลุกลามของฟันผุแบ่งตามระดับจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น คือ 0-2 ซี่ 3-5 ซี่ และ มากกว่า 6 ซี่ พบว่าในกลุ่มอาสาสมัครที่มีจำนวนซี่ฟันผุ 0-2 ซี่ ให้ผลในการลดการลุกลามการเกิดฟันผุในกลุ่มโพรไบโอติกได้ 5.25 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งได้ผลดีกว่ากลุ่มศึกษาที่มีจำนวนฟันผุ 3-5 ซี่ และ มากกว่า 6 ซี่[58] จึงกำหนดเกณฑ์ให้อาสาสมัครมีจำนวนฟันผุน้อย อาจเนื่องจากการมีฟันผุเป็นโพรงจำนวนมากเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อก่อโรคซึ่งเชื้อโพรไบโอติกไม่สามารถมีผลต่อรอยผุเป็นโพรงที่มีเชื้อก่อโรคจำนวนมาก และมีการสูญเสียเนื้อฟันไป

จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะประชากรพื้นฐานของกลุ่มอาสาสมัครคือ เพศ อายุเฉลี่ย ระดับปริมาณเชื้อ mutans streptococci และ lactobacilli ในน้ำลาย และจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น พบว่าข้อมูลพื้นฐานของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value > 0.05) สามารถสรุปได้ว่าการแบ่งกลุ่มด้วยการสุ่ม เป็นที่ยอมรับได้ สามารถลดปัญหาตัวแปรกวนที่อาจส่งผลต่อการศึกษาวิจัยได้

การศึกษาก่อนหน้าทำการศึกษาในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 21-23 ปี ในระยะสั้น 4 สัปดาห์ เป็นการศึกษาในมนุษย์เป็นครั้งแรก จากขั้นตอนของการวิจัยทางคลินิกการประเมินโพรไบโอติกเพื่อใช้เป็นอาหารของ FAO/WHO จัดว่าเป็นการศึกษาเชื้อโพรไบโอติกใน phase 1 พบว่าเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ mutans streptococci และปลอดภัยในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดี ส่วนการศึกษานี้เป็นการศึกษาทางคลินิกระยะที่ 2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ และผลข้างเคียงของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในกลุ่มอาสาสมัครที่เฉพาะเจาะจงในที่นี้คือ กลุ่ม

เด็กโต โดยมีระยะการศึกษาสั้น คือ ระยะเวลา 3 เดือน ก่อนที่จะทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีจำนวนมากขึ้น และระยะเวลานานขึ้นใน phase ต่อไป[4]

การศึกษานี้ได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน พบกลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะที่เวลา 3 เดือน และเมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มโพรไบโอติกพบว่า ที่เวลา 3 เดือน ปริมาณเชื้อ mutans streptococci ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเริ่มต้น และยังพบการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ในเดือนที่ 6 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Juneja และ Kakade ได้ทำการศึกษาระยะสั้นในการบริโภคนมโพรไบโอติก ในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี โดยกลุ่มทดลองได้รับนมโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhamnosus* hct 70 กลุ่มควบคุมได้รับนมธรรมดาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมี จำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ mutans streptococci ในน้ำลายลดลงเมื่อเปรียบเทียบก่อน และหลังดื่มนมโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[12] และสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ใช้โพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ผสมในโยเกิร์ตให้อาสาสมัครวัยรุ่นรับประทานติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีเชื้อ mutans streptococci ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากหยุดรับประทานโยเกิร์ตไปแล้ว 4 สัปดาห์[19] จากการศึกษาครั้งนี้ติดตามจำนวนเชื้อ mutans streptococci หลังหยุดรับประทานโพรไบโอติกที่นานขึ้นกว่าการศึกษาก่อนหน้า พบว่าจำนวนเชื้อ mutans streptococci ลดลงหลังหยุดรับประทาน 3 เดือน แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นเพราะเชื้อ *L. rhamnosus* SD11 มีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้ในระยะเวลาหนึ่งแต่ไม่ได้อยู่อย่างถาวร

จากการนำผลการลดลงของเชื้อ mutans streptococci มาวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์หลายตัวแปรในตัวแบบสุดท้ายทำให้เห็นว่าเชื้อ mutans streptococci ตั้งต้นมีผลต่อการลดลงของเชื้อ mutans streptococci ในช่องปาก โดยจะเห็นผลชัดเจนเมื่อมีระดับเชื้อ mutans streptococci ในระดับปานกลางคือ ตั้งแต่ 3 $\log_{10}$CFU/ml ถึงน้อยกว่า 5 $\log_{10}$CFU/ml) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 จะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ mutans streptococci ได้ดีในอาสาสมัครที่มีเชื้อ mutans streptococci ตั้งต้นในระดับกลาง

จากผลการศึกษาของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ที่มีผลต่อการลดเชื้อ mutans streptococci อาจเนื่องมาจากกลไกการทำงานของโพรไบโอติกที่สามารถแข่งขันในการ

แย่งพื้นที่และอาหารในการดำรงอยู่ในร่างกายทำให้แบคทีเรียก่อโรคมีโอกาสอยู่รอดน้อยลง และสามารถสร้างสารแบคทีริโอซินที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในช่องปากได้[50] สามารถยึดติด (adhesion) กับ oral mucosa และมีความสามารถในการเกาะกลุ่มแบบ autoaggregation และ coaggregation ได้สูง[17]

การศึกษานี้ใช้เกณฑ์การตรวจฟันที่ปรับปรุงมาจากเกณฑ์การตรวจและประเมินโรคฟันผุด้วยระบบ The international caries detection and assessment system (ICDAS) ปี ค.ศ. 2009[59] เป็นเกณฑ์การตรวจฟันที่มีการนับฟันผุในทุกระดับทั้งที่ผุเฉพาะผิวเคลือบฟันที่ยังไม่มีการเสียผิวเคลือบฟัน ผุเฉพาะผิวเคลือบฟันที่มีการเสียผิวฟัน และผุถึงชั้นเนื้อฟัน ทั้งที่เป็นฟันผุลุกลาม (active) และหยุดยั้ง (inactive) ซึ่งถือว่าเป็นเกณฑ์การตรวจฟันที่ดูรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นทำให้สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของสภาวะฟันผุในแต่ระดับได้ชัดเจน

การศึกษานี้ได้ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของฟันผุในช่องปาก พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 12-15 ปี แสดงให้เห็นว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีการเกิดฟันผุใหม่น้อยกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อติดตามที่เวลา 9 เดือน สอดคล้องกับการศึกษาของ Nase และคณะ ที่ทำการศึกษาผลของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG ต่อเชื้อ mutans streptococci ในเด็กอายุ 1-6 ปี โดยให้รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อ *L. rhamnosus* GG เป็นระยะเวลา 7 เดือน พบปริมาณฟันผุน้อยกว่าเด็กที่อยู่ในกลุ่มควบคุมที่ได้รับนมปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [47]

การศึกษานี้ใช้รูปแบบการให้โพรไบโอติกในรูปแบบของนมผงผสมโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย และการดื่มนมเป็นกิจวัตรประจำวันของเด็ก นอกจากนี้นมมีส่วนประกอบที่ช่วยคืนกลับแร่ธาตุให้แก่ฟัน เช่น สารเคเซอีน (casein) แคลเซียม (calcium) และฟอสฟอรัส (phosphorus) นอกจากนี้นมผงเก็บรักษาไม่ยาก สามารถเก็บไว้ที่อุณภูมิห้องได้ ผู้วิจัยจึงคาดว่าสามารถนำมาปรับใช้ในการศึกษาได้ไม่ยาก

โพรไบโอติกที่นำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีอยู่ในร่างกายของมนุษย์อยู่แล้วก่อนนำมาใช้ได้มีการทดสอบความปลอดภัยก่อนนำมาใช้กับมนุษย์ อย่างไรก็ตามมีรายงานถึงผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติก ได้แต่น้อยมาก เช่น การติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือด และติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจอักเสบพบเพียง 0.05% - 0.4% ของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ และไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อฉวยโอกาส ซึ่งการติดเชื้อส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวที่ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันต่ำ[51] ส่วนคนที่มีสุขภาพแข็งแรงดียังไม่มีรายงานถึงผลข้างเคียง จากการศึกษานี้ไม่พบผลข้างเคียงและภาวะแทรกซ้อน

จากการใช้โพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ตลอดระยะเวลาดำเนินการศึกษา จึงถือว่า *L. rhamnosus* SD11 มีความปลอดภัยสำหรับการใช้ในกลุ่มเด็กอายุ 12-15 ปี

บทที่ 5

บทสรุป และข้อเสนอแนะ

บทสรุป

1. การได้รับนมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 เดือน มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ mutans streptococci ในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 12-15 ปี
2. การได้รับนมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 เดือน สามารถลดการเกิดฟันผุใหม่ได้ในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 12-15 ปี เมื่อติดตามผลที่ 9 เดือน
3. ไม่พบผลข้างเคียงจากการได้รับนมผงโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ตลอดการศึกษา

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษาในครั้งต่อไปทำการศึกษาเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในกลุ่มตัวอย่างที่มีจำนวนมากขึ้น และมีระยะเวลาในการติดตามนานขึ้น เพื่อสามารถเห็นผลการเปลี่ยนแปลงสภาวะฟันผุในฟันแท้ได้ชัดเจนมากขึ้น และมีการศึกษาผลการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* SD11 ในช่องปาก

เอกสารอ้างอิง

1. Petersen PE, Ogawa H. Prevention of dental caries through the use of fluoride. ***Community Dent Hlth*** 2016; 33(2): 66-8.
2. กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 6 พ.ศ. 2550 ประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก; 2551
3. กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 7 พ.ศ. 2555 ประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก; 2556
4. Food and Health Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002: 1-11.
5. Twetman S, Stecksen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. ***Int J Paediatr Dent*** 2008; 18(1): 3-10.
6. Barbu A, Neamtu MB, Zahan M, Miresan V. Novel uses of probiotics in human health. ***Acta Medica Transilvanica*** 2016; 21(3): 26-30.
7. Shi LH, Balakrishnan K, Thiagarajah K, Ismail NIM, Yin OS. Beneficial Properties of Probiotics. ***Trop Life Sci Res*** 2016; 27(2): 73.
8. Cagetti MG, 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.
9. 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.

10. Çaglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. ***Int J Paediatr Dent*** 2008; 18(1): 35-9.
11. Söderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with *Streptococcus mutans* biofilm formation in vitro. ***Curr Microbiol*** 2011; 62(2): 618-22.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlen G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. ***Lett Applied Microbiol*** 2011; 53(4): 452-9.
19. 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.

20. Haukioja A. Probiotics and oral health. ***Eur J Dent*** 2010;4(3):348-55.

21. Çaglar E, Onder Kuscu O, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S. Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. ***Acta Odontol Scand*** 2008; 66(3): 154-8.

22. Zambori C, Cumpănăşoiu C, 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(1): 126-30.

23. Gordon DM. The potential of bacteriocin-producing probiotics and associated caveats. ***Future Microbiol*** 2009; 4(8): 941-3.

24. 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.

25. 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.

26. Ramamurthy PH, Swamy HS, Bennete F, Rohini M, Nagarathnamma T. Relationship between severe-early childhood caries, salivary mutans streptococci, and lactobacilli in preschool children of low socioeconomic status in Bengaluru city. ***J Indian Soc Pedod Prev Dent*** 2014; 32(1): 44.

27. 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.

28. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. ***Caries Res*** 2004; 38(3): 182-91.

29. Featherstone J. The continuum of dental caries evidence for a dynamic disease process. ***J Dent Res*** 2004; 83: 39-42.

30. Dirks OB. Posteruptive changes in dental enamel. ***J Dent Res*** 1966;45(3):503-11.

31. Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. ***J Clin Periodontol*** 2008; 35(10): 897-905.

32. Iniesta M, Herrera D, Montero E, Zurbriggen M, Matos AR, Marín MJ, et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus reuteri*-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. ***J Clin Periodontol*** 2012; 39(8): 736-44.

33. Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. ***J Clin Periodontol*** 2006; 33(3): 226-32.

34. Hatakka K, Ahola A, Yli-Knuuttila H, Richardson M, Poussa T, Meurman J, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral Candida in the elderly—a randomized controlled trial. ***J Dent Res*** 2007; 86(2): 125-30.

35. 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.

36. Çaglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. ***Acta Odontol Scand*** 2005; 63(6): 317-20.

37. Pinto G, Cenci M, Azevedo M, Epifanio M, Jones M. Effect of yogurt containing *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis DN-173010 probiotic on dental plaque and saliva in orthodontic Patients. ***Caries Res*** 2013; 48(1): 63-8.

38. Stecksén-Blicks C, Sjöström 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.

39. Singh R, Damle SG, Chawla A. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb12 and *Lactobacillus acidophilus* La5. ***Acta Odontol Scand*** 2011; 69(6): 389-94.
40. Mortazavi S, Akhlaghi N. Salivary *Streptococcus mutans* and Lactobacilli levels following probiotic cheese consumption in adults: A double blind randomized clinical trial. ***J Res Med Sci*** 2012; 17(1): 57-66.
41. Taipale T, Pienihäkkinen K, Salminen S, Jokela J, Söderling E. *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 administration in early childhood: a randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. ***Caries Res*** 2012; 46(1): 69-77.
42. 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.
43. 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(1): 1-5.
44. Jain P, Sharma P. Probiotics and Their Efficacy in Improving Oral Health: A Review. ***J Appl Pharm Sci*** 2012; 2(11): 151-63.
45. Guggenheim B, Schmid R, Aeschlimann J, Berrocal R, Neeser J-R. Powdered Milk Micellar Casein Prevents Oral Colonization by *Streptococcus sobrinus* and Dental Caries in Rats: A Basis for the Caries–Protective Effect of Dairy Products. ***Caries Res*** 1999; 33(6): 446-54.
46. Ferrazzano G, Cantile T, Quarto M, Ingenito A, Chianese L, Addeo F. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization in vitro. ***Aust Dent J*** 2008; 53(4): 314-9.

47. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä 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.

48. 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.

49. Wannun P, Piwat S, Teanpaisan R. Purification and characterization of bacteriocin produced by oral *Lactobacillus paracasei* SD1. ***Anaerobe*** 2014; 27: 17-21.

50. 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: 1-11.

51. Borriello S, Hammes W, 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.

52. Wagner RD, Warner T, Roberts L, Farmer J, Balish E. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. ***Infect Immun*** 1997; 65(8): 3345-51.

53. Doron S, Snydman DR. Risk and safety of probiotics. ***Clin Infect Dis*** 2015; 60(suppl 2): S129-34.

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

55. Sullivan Å, Borgström M, Granath L, Nilsson G. Number of mutans streptococci or lactobacilli in a total dental plaque sample does not explain the variation in caries better than the numbers in stimulated whole saliva. ***Community Dent Oral Epidemiol*** 1996; 24(3): 159-63.

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

57. Banting D, Deery C, Eggertsson H, Ekstrand KR, Zandona AF, Ismail Al. et al. Criteria manual International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). 2009. Available from: http://www.icdas.org.

58. 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: 1-7.

59. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. ***Eur J Orthod*** 2009; 31(4): 407-11.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกการตรวจฟัน

ชื่อ-นามสกุล .....ชั้น ม...../..... ID.....

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง อายุ.....ปี

Tooth	Status	O	M	D	B	Li	Tooth	Status	O	M	D	B	Li
11							21						
12							22						
13							23						
14							24						
15							25						
16							26						
17							27						
41							31						
42							32						
43							33						
44							34						
45							35						
46							36						
47							37						

Saliva collection

☐ Yes ☐ No

หมายเหตุ .....

.....

.....

ภาคผนวก ข

แบบบันทึกการดื่มนมโครงการและประวัติการเจ็บป่วยในระหว่างร่วมโครงการ

เดือน.....

ชื่อ ..... นามสกุล..... ID .....

วันที่	ได้บริโภคนมโครงการ	ประวัติการเจ็บป่วย					ไปพบแพทย์เนื่องจากป่วย	ทานยาปฏิชีวนะตามแพทย์สั่ง	ขาดโรงเรียนเนื่องจากป่วย
		คลื่นไส้	อาเจียน	ปวดท้อง	ท้องเสีย	อื่นๆ (โปรดระบุ)			

ภาคผนวก ค

ใบเชิญชวน

ขอเชิญเข้าร่วมโครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาโพรไบโอติกแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดีสิบเอ็ด เพื่อป้องกันฟันผุ และ การประเมินประสิทธิผลในอาสาสมัคร

เรียน ผู้ปกครองและนักเรียนที่นับถือ

ข้าพเจ้า ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาลและคณะวิจัย เป็นอาจารย์ของคณะทันต-แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้ขอความร่วมมือจากทางโรงเรียนที่นักเรียนในปกครองของท่านศึกษาอยู่ ในการทำวิจัยเรื่องดังปรากฏข้างต้น คณะวิจัยจึงขอเรียนรายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัยและขอเชิญชวนนักเรียนในปกครองของท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยดังนี้

เนื่องจากโรคฟันผุเป็นโรคที่มีความชุกสูงในประเทศไทย โดยปัญหาฟันผุหากไม่ได้รับการรักษาจะเกิดการลุกลามของรอยโรคฟันผุอย่างรวดเร็วจนถึงโพรงประสาทฟันซึ่งก่อให้เกิดความเจ็บปวด การติดเชื้อ ส่งผลให้เกิดการสูญเสียฟัน และส่งผลให้เกิดปัญหาด้านการบดเคี้ยวในระยะเวลาต่อมา โดยสาเหตุหนึ่งของโรคฟันผุคือ เชื้อแบคทีเรียก่อโรค จึงมีการวิจัยเพื่อหาวิธียับยั้งปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคฟันผุ

โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และเมื่อได้รับในปริมาณเหมาะสมจะเป็นประโยชน์สำหรับสุขภาพ กลไกของโพรไบโอติกที่มีผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพในช่องปากคือ 1) ลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคโดยแย่งอาหารในการเจริญเติบโต 2) แข่งขันเพื่อพื้นที่สำหรับการเกาะติด 3) สร้างสารที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค 4) เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะที่และทั้งระบบ

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

หากการศึกษานี้พบว่าแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคฟันผุได้ ในอนาคตอาจใช้วิธีการนี้เพื่อลดปริมาณเชื้อก่อโรคฟันผุ ซึ่งจะมีผลในการป้องกันฟันผุในบุคคลทั่วไปในการศึกษานี้รับอาสาสมัครอายุ 12-17 ปี จำนวน 200 คน ไม่มีโรคประจำตัวใดๆ เช่น

โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน โรคมะเร็ง โรคเยื่อบุหัวใจอักเสบ โรคหัวใจรูมาติก เป็นต้น ไม่แพ้นมวัว ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนการเข้าร่วมโครงการ ไม่รับประทานผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกหรือไซลิทอลเป็นประจำ ไม่ติดเครื่องมือจัดฟันแบบติดแน่น และการตรวจภายในช่องปากทางคลินิกมีจำนวนฟันผุไม่มากกว่า 3 ซี่

หากผู้ปกครองอนุญาตให้นักเรียนในปกครองของท่านร่วมโครงการนี้ จะมีขั้นตอนของการศึกษาที่เกี่ยวข้องคือ ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการสุ่มให้เข้ากลุ่มการศึกษากลุ่มใดกลุ่มหนึ่งใน 4 กลุ่มนี้ ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุมที่ได้รับโยเกิร์ตที่เตรียมจาก หัวเชื้อโยเกิร์ตในท้องตลาดคือแลคโตแบซิลลัสบุลการิคัส 2) กลุ่มควบคุมที่ได้รับนมผงไม่มีโพรไบโอติก 3) กลุ่มศึกษาที่ได้รับโยเกิร์ตผสมโพรไบโอติกแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 และ 4) กลุ่มศึกษาที่ได้รับนมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดี 11 โดยผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตหรือนมผงที่ทางคณะวิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้วันละ 1 ครั้ง จากครูผู้ประสานงานวิจัยนี้ เป็นระยะเวลา 3 เดือน หากในช่วงวันหยุดผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับผลิตภัณฑ์ไปบริโภคที่บ้าน นักเรียนที่ได้รับนมผงให้ผสมในน้ำอุ่น ประมาณ 100 ซีซี (1 แก้วน้ำดื่ม)

หากอาสาสมัครมีการดำเนินชีวิตที่เปลี่ยนไป เช่น มีการได้รับยาอื่นๆ จากที่แพทย์ให้เพื่อรักษาการเจ็บป่วยอื่น ๆ เช่นเป็นหวัด ยังสามารถใช้ผลิตภัณฑ์ได้ตามปกติ แต่ให้บันทึกในสมุดไว้

ผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับการตรวจสภาวะในช่องปากคือ การตรวจฟันผุ และคราบจุลินทรีย์ รวมถึงการเก็บตัวอย่างน้ำลาย ซึ่งกิจกรรมทั้งหมดจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที กิจกรรมดังกล่าวจะดำเนินการ 4 ครั้ง คือเริ่มต้นก่อนได้รับผลิตภัณฑ์ เดือนที่ 1 เดือนที่ 3 และเดือนที่ 6 ของโครงการ ระหว่างการวิจัยจะมีการสอบถามถึงอาการหรือผลข้างเคียงจากการการได้รับผลิตภัณฑ์และความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

จากการทบทวนวรรณกรรมถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ จากการได้รับจุลินทรีย์โพรไบโอติก ไม่พบว่ามีอันตรายหรือผลข้างเคียงใดๆเกิดขึ้น จากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกในคนทั่วไป อย่างไรก็ตามมีรายงานการติดเชื้อเกิดขึ้นในผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบและผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องเท่านั้น โดยพบอัตราการติดเชื้อต่ำมากคิดเป็น 0.05%-0.4% และจากการวิจัยที่ผ่านมาของคณะวิจัยในการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก ยังไม่พบผลข้างเคียงใดๆ

อย่างไรก็ตามหากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมีอาการแพ้หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจากโครงการนี้ ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย เป็นผื่นแพ้ ให้แจ้งแก่ทาง

ทีมผู้วิจัยทราบโดยทันทีตลอด 24 ชั่งโมง เพื่อให้ทางทีมผู้วิจัยได้ตรวจสอบและทำการแก้ไขปัญหาได้ โดยสามารถติดต่อได้ที่ ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาล เบอร์โทร 0864834619 หรือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิง สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ เบอร์โทร 0897374488

ในโครงการนี้หากอาสาสมัครได้รับผลเสียหายหรืออันตรายใดๆ ที่เป็นผลที่เกิดจากวิจัยนี้ ทางคณะวิจัยจะรับผิดชอบค่ารักษาทั้งหมดตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ และถ้าอาสาสมัครต้องการที่จะถอนตัวออกจากการวิจัยนี้เมื่อใด ก็สามารถกระทำได้อย่างอิสระ คณะผู้วิจัยจะดำเนินการศึกษาตามรายละเอียดที่ระบุไว้อย่างเคร่งครัด หากมีการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับอาสาสมัคร ผู้วิจัยจะแจ้งให้ผู้ปกครองทราบโดยเร็ว หากมีคำถามใดๆ ก่อนที่จะตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ ท่านสามารถซักถามคณะผู้วิจัยได้อย่างเต็มที่ หรือหากมีข้อร้องเรียนสามารถร้องเรียนมาได้ที่ หน่วยส่งเสริมและพัฒนางานวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ เบอร์โทร 074-287504, 074-287533

ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ศาสตราจารย์ ดร. รวี เถียรไพศาล

หัวหน้าโครงการ

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

หมายเหตุ :- กรุณาอ่านข้อความให้เข้าใจก่อนเซ็นชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการ

ภาคผนวก ง

แบบยินยอมเข้าร่วมศึกษา

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาโพรไบโอติกแลคโตแบซิลลัสแรมโนซัสเอสดีสิบเอ็ด เพื่อป้องกันฟันผุและการประเมินประสิทธิผลในอาสาสมัคร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

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

ได้อ่าน/ได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว

หากผู้อยู่ในปกครองของข้าพเจ้าได้รับผลข้างเคียงที่พิสูจน์ได้ว่ามาจากการวิจัย ข้าพเจ้าจะได้รับการปฏิบัติ/การชดเชย ดังนี้ คือ ได้รับการดูแลและรักษาพร้อมทั้งค่ารักษาตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โดยผู้รับผิดชอบโครงการวิจัยนี้คือ ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล สถานที่ติดต่อ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เบอร์โทรศัพท์ 0864834619 E-mail : rawee.t@psu.ac.th หรือเมื่อมีปัญหาใดๆเกิดขึ้นเนื่องจากการทำการวิจัยในเรื่องนี้ข้าพเจ้าสามารถร้องเรียนไปที่คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ 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.....ผู้ยินยอม

ลงชื่อ.....บิดา/มารดา/ผู้ปกครอง

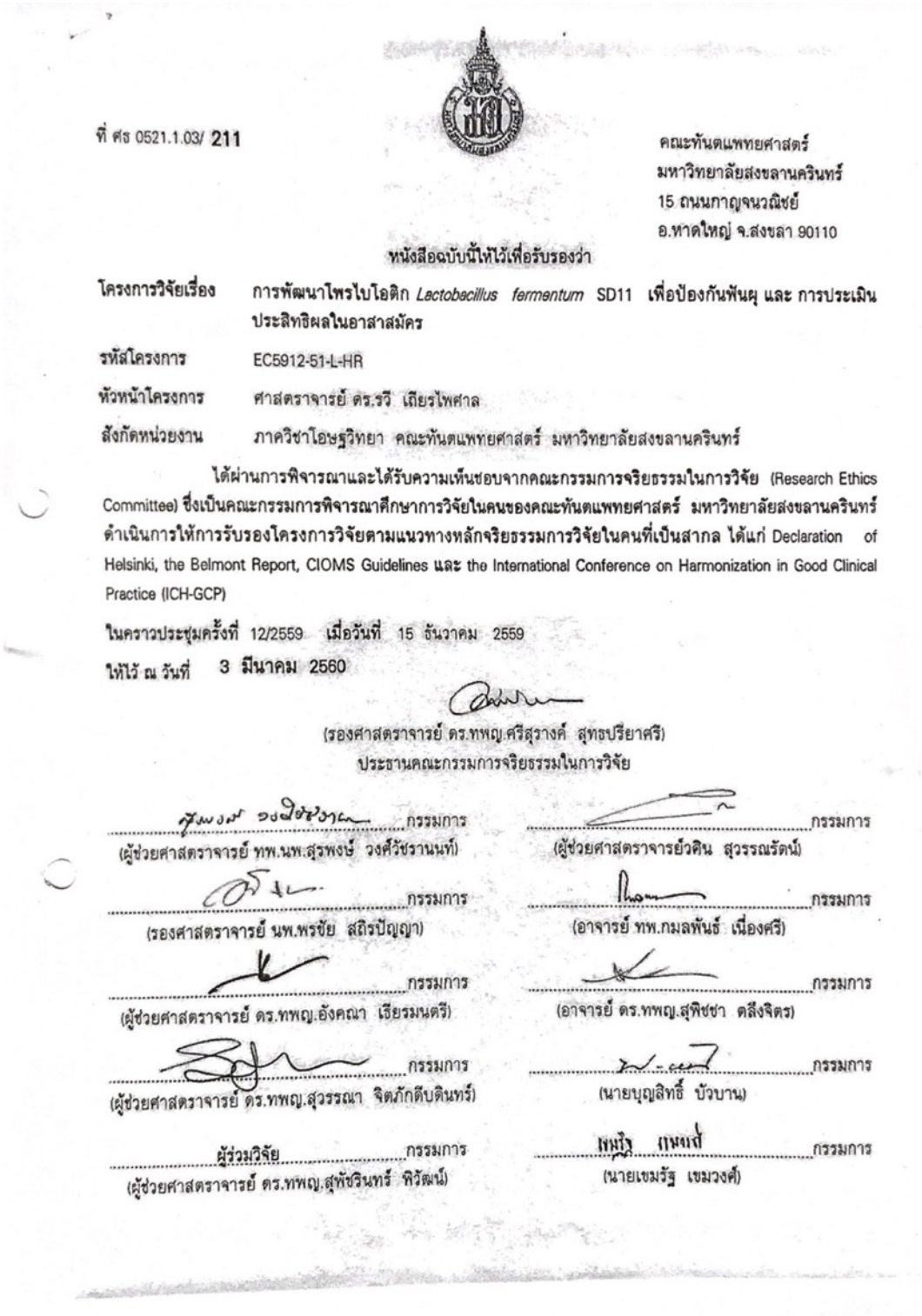
ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการ

ลงชื่อ.....พยาน

ลงชื่อ.....พยาน

ภาคผนวก จ

หนังสือรับรองผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย



ที่ ศธ 0521.1.03/ 211

คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
15 ถนนกาญจนวณิชย์
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

หนังสือฉบับนี้ให้ไว้เพื่อรับรองว่า

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาโพรไบโอติก *Lactobacillus fermentum* SD11 เพื่อป้องกันฟันผุ และ การประเมินประสิทธิผลในอาสาสมัคร

รหัสโครงการ EC5912-51-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.ศรีสุวางค์ สุทธปรียาศรี)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย

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

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของระดับเชื้อ mutans streptococci จากที่เวลาเริ่มต้น T0 ถึงที่เวลา 3 เดือน (T3) กับการได้รับโพรไบโอติก โดยแบ่งระดับเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาตั้งต้นเป็นระดับ ต่ำ 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=44)	0 (0)	7 (100)	17 (51.52)	16 (48.48)	4 (100)	0 (0)
Control (n=45)	0 (0)	13 (100)	7 (28)	18 (72)	5 (71.43)	2 (28.57)

† ระดับของเชื้อ mutans streptococci ที่เวลาเริ่มต้นแบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่

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

ชื่อสกุล ชวรชต์ มาไพศาลสิน

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5910820006

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
ทันตแพทยศาสตรบันฑิต	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	2556

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

1. ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ จากเงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2561
2. ทุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์/ โครงการวิจัยสำหรับนักศึกษาหลังปริญญาจากเงินกองทุนวิจัย
3. ทุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ /โครงการวิจัย/ โครงงานพิเศษสำหรับนักศึกษาหลังปริญญาจากเงินรายได้คณะทันตแพทยศาสตร์

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ทันตแพทย์ปฏิบัติการ กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลกันทรลักษ์ อำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ชวรชต์ มาไพศาลสิน, สุพัชรินทร์ พิวัฒน์, รวี เถียรไพศาล, พิชานัน ศรีสมหมาย ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* SD11 ต่อเชื้อ mutans streptococci ในเด็กอายุ 12-15 ปี. มหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2561 (Thailand Research Expo 2018); วันที่ 9-13 สิงหาคม 2561; ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์และบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ, ประเทศไทย; 2561.