ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก: การวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

Effect of Milk Powder Contained Probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1 on Mutans Streptococci and Caries Status in Young Children: A Randomized Controlled Trial

กานต์รวี รังสิตเสถียร

Karnrawee Rangsitsathian

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
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก : การวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

ผู้เขียน นางสาวกานต์รวี รังสิตเสถียร

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

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

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

…….....…...
(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

คณะกรรมการสอบ

……...ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทีป พันธุมวนิช)

…….กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์)

…….กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล)

…….กรรมการ
(ดร.อ้อยทิพย์ ชาญการค้า)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

……
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

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

ลงชื่อ……..……..
(นางสาวกานต์รวี รังสิตเสถียร)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ……..…….

(นางสาวกานต์รวี รังสิตเสถียร)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอาย เอสดีวัน ต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก : การวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม

ผู้เขียน นางสาวกานต์รวี รังสิตเสถียร

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

โรคฟันผุในเด็กเล็กเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญโดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนา รวมถึงประเทศไทยด้วย การใช้โพรไบโอติกเป็นกลยุทธ์หนึ่งที่มีศักยภาพในการป้องกันโรคในช่องปาก การศึกษาที่ผ่านมารายงานถึง โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน สามารถลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไครวมทั้งยังมีความปลอดภัยในการใช้ทั้งในกลุ่มผู้ใหญ่และวัยรุ่น วัตถุประสงค์วิจัย: เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคในน้ำลาย และสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก ความปลอดภัยของการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในเด็กเล็ก รวมถึงความคงอยู่ของโพรไบโอติกพาราเคซิอาย เอสดีวันในกลุ่มโพรไบโอติก วิธีการวิจัย: การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม แบบปิดสองทาง (Double blind) ในกลุ่มเด็กอายุระหว่าง 1-5 ปี จำนวน 124 คน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ด้วยวิธีการสุ่มแบบง่าย (simple randomization) คือ กลุ่มทดลองได้รับนมผง (นมวัว) ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน และกลุ่มควบคุมได้รับนมผง (นมวัว) ปกติ โดยนมผงทั้งสองกลุ่มมีลักษณะทางกายภาพกลิ่น และรสชาติ คล้ายคลึงกัน โดยให้กลุ่มศึกษาทานนมทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน กลุ่มศึกษาทุกคนถูกเก็บตัวอย่างน้ำลายด้วยวิธี Modified spatula method ที่เวลาเริ่มต้น (T_0) ที่เวลา 3 เดือน (T_3) ที่เวลา 4 เดือน (T_4) และที่เวลา 6 เดือน (T_6) ทำการเก็บข้อมูลระดับปริมาณ Colony Forming Unit (CFU) ของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและเชื้อแลคโตบาซิลไลต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร กลุ่มศึกษาทุกคนได้รับการตรวจฟันที่เวลาเริ่มต้น (T_0) และที่เวลาสิ้นสุดการวิจัย (T_6) ตามเกณฑ์ Modified of Nyvad's criteria นอกจากนี้ทางผู้วิจัยได้กำหนดให้มีการจดบันทึกการทานนมของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษาทุกวัน รวมทั้งมีการติดตามอาการแพ้หรือผลข้างเคียงจากการทานนมตลอดการวิจัย ผลการวิจัย: พบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และการเพิ่มขึ้นของเชื้อแลคโตบาซิลไลในกลุ่มโพรไบโอติก นอกจากนี้พบว่าจำนวน

ฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δdt) ในกลุ่มโพรไบโอติกน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่ง Δdt = 0.76 ± 1.29 และ 1.25 ± 1.64 ซี่ตามลำดับ และเด็กในกลุ่มควบคุมมีการลุกลามของรอยโรคฟันผุมากกว่าเด็กในกลุ่มโพรไบโอติก กลุ่มศึกษาทุกคนไม่พบมีผลข้างเคียงของการได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันตลอดการวิจัย สรุปผล: โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมีผลในการป้องกันและควบคุมโรคฟันผุและมีความปลอดภัยเพียงพอในการใช้ในกลุ่มเด็กเล็ก ดังนั้นการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันจึงเป็นทางเลือกที่ดีในการควบคุมการเกิดโรคฟันผุในเด็กเล็กได้

Thesis Title	Effect of Milk Powder Contained Probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1 on Mutans Streptococci and Caries Status in Young Children: A Randomized Controlled Trial
Author	Miss Karnrawee Rangsitsathian
Major Program	Oral Health Sciences
Academic Year	2014

ABSTRACT

Dental caries is a major public health problem for young children in developing country, including Thailand. Probiotic administration is considered as a potential strategy for improving or maintaining oral health. Our previous studies revealed that *Lactobacillus paracasei* SD1, a novel probiotic strain, could reduce mutans streptococci (MS) and safe for adult and teen-aged patients. This study examined the effect of *L. paracasei* SD1 on the level of salivary MS, and on caries lesions developed in young children. And whether this probiotic strain was safe for using in young children. **Materials and methods**: After informed consent, 124 children with age 1-5 year old were recruited. Children were divided into 2 groups, probiotic and placebo groups, by simple randomized. The probiotic group received milk powder contained *L. paracasei* SD1 and the control group received standard milk-powder once daily for three months. The salivary samples were collected and examined at baseline (T_0), 3-month (T_3), 4-month (T_4) and 6-month (T_6) of study. Oral health was examined at T_0 and at T_6 of the study according to the modified of Nyvad's criteria. Side effects and compliance were also recorded. **Results & Discussion**: This study demonstrated that probiotic *L. paracasei* SD1 was no negative side effects following the probiotic intervention. It was demonstrated that a reducing of MS level and an increasing of lactobacilli (LB) levels were observed among children in the probiotic group. Moreover, a new caries increment (Δdt) among children received probiotic milk was less than children received standard milk with means of $\Delta dt = 0.76 \pm 1.29$ and 1.25 ± 1.64, respectively. **Conclusions**: Our results indicates that *L. paracasei SD1* may be a potential probiotic strain for prevention of dental caries in young children. It was also showed that *L. paracasei* SD1 was safe enough for use in young

children. Therefore, application of *L.paracasei* SD1 can be a good alternative to control dental caries in children.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล และ อ.ทพญ.นุชนรี อัครชนียากร อาจารย์คณะทันตแพทยศาสตร์ ผู้ซึ่งให้คำปรึกษาแนะนำความรู้ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ ตลอดจนสละเวลาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.รวี เถียรไพศาล ในการแนะนำและให้ความรู้การทำวิจัยเกี่ยวกับการเลี้ยงเชื้อ การสกัดดีเอนเอของเชื้อและแลปทางจุลชีววิทยา

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้กรุณาให้แนวคิดข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้นและขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ผู้สนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัยครั้งนี้ หน่วยบัณฑิตศึกษา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆเรื่อง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาโอษฐวิทยา รวมถึงนักศึกษาหลังปริญญาภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัย และช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ขอขอบคุณรุ่นพี่ และรุ่นน้องนักศึกษาหลังปริญญาสาขาทันตกรรมสำหรับเด็ก ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดสตูล ผู้อำนวยการโรงพยาบาลควนกาหลง จังหวัดสตูล โรงพยาบาลต้นสังกัดที่สนับสนุนทุนการลาศึกษาต่อของข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณเพื่อนร่วมงานโรงพยาบาลควนกาหลง และทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว ที่เสียสละเวลามอบความห่วงใย และคอยสนับสนุนในทุกเรื่อง พร้อมทั้งให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าเสมอมา ขอขอบพระคุณคณาจารย์บุคลากรทุกท่านในภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและให้กำลังใจในการเรียนและทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา คุณงามความดีที่เกิดจากการวิจัยครั้งนี้ ขอมอบแด่บุพการีและคณาจารย์ทุกท่านที่เป็นผู้ประสิทธิประสาทวิชาตั้งแต่เริ่มต้นการศึกษาของข้าพเจ้า

กานต์รวี รังสิตเสถียร

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (10)
รายการตาราง (11)
รายการรูป (13)
บทที่
1 บทนำ
บทนำต้นเรื่อง 1
การทบทวนวรรณกรรม 3
วัตถุประสงค์ 9
2 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ 10
3 ผลการวิจัย 23
4 บทวิจารณ์ 38
5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 45
บรรณานุกรม 46
ภาคผนวก 52
ประวัติผู้เขียน 60

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 แสดงเกณฑ์การตรวจฟันผุ (ปรับปรุงจากดัชนี Nyvad และคณะ 2554) 13
ตารางที่ 2 แสดงช่วงเวลาในการตรวจฟันและเก็บน้ำลาย 16
ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามเพศ ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล และแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น 24
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุ จำนวนซี่ฟันผุ ด้านฟันผุ และแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น 24
ตารางที่ 5 แสดงจำนวนร้อยละของเด็กแบ่งตามช่วงอายุ และแบ่งตามกลุ่มศึกษา 25
ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่ฟันผุที่ระดับช่วงคะแนน และแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น 25
ตารางที่ 7 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแบ่งตามเพศ 26
ตารางที่ 8 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล และแบ่งตามเพศ 26
ตารางที่ 9 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 4 เดือน และ 6 เดือนแบ่งตามกลุ่มศึกษา 28
ตารางที่ 10 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่ระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล ที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 4 เดือน และ 6 เดือนแบ่งตามกลุ่มศึกษา 29
ตารางที่ 11 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับเชื้อ มิวแทนสเตรปโตคอคไคที่ช่วงเวลา 3 เดือน (T_3) เปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น และแบ่งตามกลุ่มศึกษา 30
ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่ฟันผุของกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย 32
ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านฟันผุของกลุ่มศึกษา ที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย 32

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟันผุของกลุ่มศึกษาแบ่งตามระดับจำนวนซี่ฟันผุ ที่เวลาเริ่มต้น 33
ตารางที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่และด้านฟันผุ ของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย 35
ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านที่มีฟันผุ ที่ด้านหลุมร่องฟันที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัยของกลุ่มศึกษา โดยแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น 36
ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านที่มีฟันผุ ที่ด้านเรียบที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัยของกลุ่มศึกษา โดยแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น 37

รายการรูปภาพ

รูปภาพที่ **หน้า**

รูปที่ 1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานในการศึกษาวิจัย 10
รูปที่ 2 แสดงวิธีการการเก็บตัวอย่างน้ำลายใช้วิธี Modified spatula method 17
รูปที่ 3 แสดง Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร
ของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแลคโตบาซิลไล 17
รูปที่ 4 แสดงระดับโคโลนีของเชื้อเป็นระดับของ Colony Forming Unit (CFU)
ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร 18
รูปที่ 5 แสดงรูปแบบ DNA fingerprint จากการทำ AP-PCR 31

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

โรคฟันผุเป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญโรคหนึ่งของประเทศไทย โดยจากรายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศครั้งที่ 7 พ.ศ.2555 ซึ่งจัดทำโดยสำนักทันตสาธารณสุขกรมอนามัยพบว่า ในกลุ่มเด็กอายุ 3 ปีพบความชุกการเกิดฟันผุร้อยละ 51.8 มีค่าเฉลี่ยฟันผุ อุด ถอน (dmft) เท่ากับ 2.7 ซี่ต่อคน และเด็กอายุ 12 ปีมีความชุกการเกิดฟันผุร้อยละ 52.3 ค่าเฉลี่ยฟันผุ อุด ถอน (DMFT) เท่ากับ 1.3 ซี่ต่อคน จากรายงานดังกล่าวจะพบว่าโรคฟันผุมีความชุกสูงในประเทศไทย[1] ซึ่งแนวโน้มการเกิดฟันผุมักเพิ่มขึ้นตามอายุ[2,3] ผลกระทบของฟันผุทำให้เกิดอาการเสียวฟันและหากไม่ได้รับการรักษาเมื่อฟันผุลุกลามถึงประสาทฟันทำให้เกิดการปวดฟัน การติดเชื้อและเกิดปัญหาต่อการบดเคี้ยวรวมทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้เด็กที่มีฟันน้ำนมผุยังพบว่ามีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดฟันผุของฟันถาวรในอนาคตอีกด้วย[4]

โรคฟันผุเกิดจากการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคกับปัจจัยที่ทำหน้าที่ในการป้องกันโรค ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคปัจจัยหนึ่งคือเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุโดยแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดฟันผุคือเชื้อในกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไคซึ่งพบได้ในแผ่นคราบจุลินทรีย์และน้ำลาย โดยเชื้อดังกล่าวจะถูกพบมากในเด็กที่มีฟันผุมากกว่าเด็กที่ไม่มีฟันผุ ดังนั้นแนวคิดในการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคฟันผุจึงเป็นเรื่องที่กำลังได้รับความสนใจ

WHO ได้ให้คำนิยามว่าโพรไบโอติก หมายถึงจุลินทรีย์ที่มีชีวิต โดยเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์[5] ความเชื่อนี้เริ่มตั้งแต่ในต้นศตวรรษที่ 20 โดย Eile Metchnikoff ได้รายงานถึงชาวบัลแกเรียว่ามีอายุยืนนานกว่าประชากรชาติอื่นๆ คาดว่าสัมพันธ์กับการบริโภคผลิตภัณฑ์จากนมที่มีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่[6] นำมาสู่แนวคิดหลักในการใช้โพรไบโอติกคือการใช้แบคทีเรียชนิดที่ไม่เป็นอันตรายเข้าไปทำให้เกิดความสมดุลของเชื้อในร่างกาย ทำให้ร่างกายสามารถต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีขึ้นไปจนถึงสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ การศึกษาในปัจจุบันเห็นประโยชน์ในการใช้โพรไบโอติกในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆมากมายเช่น โรคระบบทางเดินอาหาร[7–9] โรคระบบทางเดิน

หายใจ[10,11] การติดเชื้อราในช่องคลอด[12] เป็นต้น ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษานำโพรไบโอติกมาใช้ประโยชน์ในช่องปาก เช่นการป้องกันโรคฟันผุ การป้องกันและรักษาการติดเชื้อราในช่องปาก โรคปริทันต์และภาวะกลิ่นปาก[13–15]

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเชื้อโพรไบโอติกมีผลต่อการแสดงอยู่ของเชื้อประจำถิ่นและเชื้อก่อโรคในร่างกายรวมทั้งการใช้เชื้อโพรไบโอติกในการลดเชื้อก่อโรคในช่องปากได้ผลเช่นเดียวกันกับบริเวณอื่นของร่างกาย เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นพวก anaerobic gram positive bacilli โดยโพรไบโอติกที่มีการศึกษาเพื่อใช้ควบคุมเชื้อก่อโรคฟันผุได้แก่ *Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei* เป็นต้น

กลไกการทำงานของโพรไบโอติกที่สามารถลดเชื้อก่อโรคฟันผุได้โดยการแข่งขันเพื่อครอบครองพื้นที่และสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อก่อโรคฟันผุโดยตรงและสามารถกระตุ้นภูมิต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้อีกด้วย

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน การศึกษาระยะสั้นในกลุ่มผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรงมีค่าเฉลี่ยอายุ 21±1.45 ปีและกลุ่มผู้ป่วยปากแหว่งเพดานโหว่มีค่าเฉลี่ยอายุ 19.22±3.66 ปีซึ่งได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[16,17] และจากการศึกษาระยะยาวซึ่งเป็นการวิจัยในกลุ่มศึกษาที่เป็นนักเรียนมัธยมศึกษาตอนต้นมีอายุอยู่ในช่วง 13-14 ปีได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน ผลการศึกษาพบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน[18] จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันสามารถลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้ในทุกกลุ่มศึกษา[16–18]

การศึกษานี้มีแนวความคิดต่อยอดจากการศึกษาก่อนหน้านี้[16–18]โดยจะเป็นการศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติกต่อการป้องกันโรคในช่องปากในกลุ่มเด็กเล็ก ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อเด็กเล็กในการใช้โพรไบโอติกในการป้องกันฟันผุรวมทั้งความปลอดภัยของโพรไบโอติกในการป้องกันฟันผุในเด็กเล็ก โดยเชื่อว่าเด็กเล็กจะได้ประโยชน์จากผลของการลดเชื้อฟันผุและป้องกันโรคฟันผุได้จากการรับประทานนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแทนนมผงธรรมดาที่เป็นอาหารหลักและอาหารเสริมของเด็กเล็กโดยทั่วไป นอกจากนี้ข้อมูลจากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในเด็กส่วนใหญ่ในอนาคตจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการใช้นมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกเพื่อป้องกันการเกิดโรคฟันผุในเด็กเล็ก ดังนั้น

การศึกษาในครั้งนี้จึงทำขึ้นเพื่อศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอาย เอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก

การทบทวนวรรณกรรม

โรคฟันผุในเด็กเล็ก

โรคฟันผุเป็นหนึ่งในโรคที่พบบ่อยในช่องปาก จัดเป็นโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปาก โรคฟันผุเกิดจากแบคทีเรียในแผ่นคราบจุลินทรีย์ย่อยสลายอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต สร้างภาวะความเป็นกรดโดยเฉพาะกรดแลกติกทำให้มีการทำลายเนื้อเยื่อของฟันโดยเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) และการทำลายเนื้อเยื่อของฟัน

โรคฟันผุในเด็กเล็ก (Early childhood caries) เป็นปัญหาที่พบบ่อยในช่วงวัยทารกและเด็กเล็กวัยก่อนเรียน โดยฟันผุในฟันน้ำนมของเด็กเล็กมักจะเกิดฟันผุบริเวณผิวเรียบของฟันหน้าบนโดยเริ่มจากเป็นรอยขาวขุ่น (white spot) ตามขอบเหงือกและในกรณีที่เป็นรุนแรงจะมีการลุกลามมายังฟันกรามทั้งบนและล่างในเวลาไม่นานหลังจากฟันขึ้น

การสำรวจของประเทศไทยในปี 2550[1] พบแนวโน้มการเกิดโรคฟันผุสูงขึ้นมากในเขตชนบท ซึ่งเด็กส่วนใหญ่ของประเทศไทยอาศัยอยู่ในเขตชนบท นอกจากนี้การลุกลามของฟันผุจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะเมื่อเกิดในเด็กเล็ก พบว่าฟันผุในฟันน้ำนมจะลุกลามจนถึงโพรงประสาทฟันได้รวดเร็วกว่าฟันแท้เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของฟันน้ำนมซึ่งมีความหนาของเคลือบฟันและเนื้อฟันน้อยกว่าฟันแท้จึงทำให้อัตราการเกิดฟันผุเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพโดยเฉพาะความเจ็บปวดและการติดเชื้อได้[19]

สาเหตุของโรคฟันผุ

ฟันผุมีสาเหตุจากหลายปัจจัยร่วมกันแต่มีปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องดังนี้[20]

1) โฮสต์ (Host) โดยปัจจัยสำคัญของโฮสต์ที่เกี่ยวข้องได้แก่

1.1 รูปร่างฟันแต่ละซี่ มีโครงสร้างและตำแหน่งของฟันที่มีความไวต่อการเกิดโรคแตกต่างกัน เช่นฟันกรามที่มีหลุมร่องลึกและขรุขระทำให้คราบจุลินทรีย์มีโอกาสติดฟันได้ง่ายและทำความสะอาดได้ยากขึ้น โอกาสของการเกิดโรคฟันผุจะมากขึ้น นอกจากนี้เคลือบฟันของฟันที่เพิ่งขึ้นมาในช่องปากจะมีโอกาสผุง่ายเมื่อเทียบกับฟันที่ขึ้นมาระยะหนึ่งแล้ว เนื่องจาก

ฟันที่เพิ่งขึ้นมาจะผ่านกระบวนการสะสมแร่ธาตุ (Post-eruptive maturation) น้อยกว่าฟันที่ขึ้นมาในช่องปากนานแล้ว โดยฟันที่ขึ้นมานานกว่าจะผ่านการเกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของผิวเคลือบฟันและมีการสะสมของสารอนินทรีย์ในช่องว่างที่เกิดจากการสูญเสียแร่ธาตุซึ่งช่วยในการป้องกันฟันผุ

1.2 น้ำลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยในการป้องกันโรคฟันผุ การไหลของน้ำลายมีส่วนช่วยในการชะล้างเศษอาหารและแบคทีเรียภายในช่องปากเป็นการลดโอกาสในการเกิดฟันผุ หากมีสาเหตุทำให้ปริมาณน้ำลายลดลงความเสี่ยงในการเกิดฟันผุจะเพิ่มขึ้น น้ำลายยังมีความสามารถในการบัฟเฟอร์โดยผ่านระบบกรดคาร์บอนิกไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ (carbonic acid-bicarbonate buffer system) และระบบฟอสเฟสและโปรตีน (phosphate-protein system) ซึ่งทั้งสองระบบจะช่วยให้ภาวะกรดในน้ำลายกลับคืนสู่ความเป็นกลาง ทำให้ไม่เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและน้ำลายยังมีไอออนของแคลเซียมและฟอสเฟสซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ นอกจากนี้ในน้ำลายยังมีสารต้านจุลชีพหลายชนิดเช่น lysozyme lactoferrin, peroxidase enzymes และระบบภูมิคุ้มกันที่ต้านแบคทีเรียก่อโรคฟันผุจาก salivary secretory immunoglobulins (s-IgA)

2) อาหารเป็นปัจจัยเกี่ยวข้องโดยตรงต่อการเกิดโรคฟันผุโดยเฉพาะอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลที่ย่อยแล้วทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดได้ต่ำกว่าน้ำตาลอื่นๆ ซูโครสนอกจากถูกแบคทีเรียใช้เป็นอาหารแล้ว แบคทีเรียกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไคสามารถใช้ซูโครสสร้างพอลิเมอร์ของโพลิแซกคาไรด์ที่เรียกว่ากลูแคน (glucan) เพื่อให้แบคทีเรียสามารถเกาะติดในแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้ความถี่สูงในการรับประทานแป้งและน้ำตาลโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างมื้ออาหารจะส่งเสริมการเกิดโรคฟันผุ

3) จุลชีพก่อโรคฟันผุ เชื้อที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดฟันผุ คือเชื้อในกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแลคโตบาซิลไล โดยมีการศึกษาแสดงความสัมพันธ์ของประชากรที่มีฟันผุจะตรวจพบจำนวนของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแลคโตบาซิลไลในน้ำลายและแผ่นคราบจุลินทรีย์สูง[21,22] โดยเชื้อในกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไคมีความสัมพันธ์กับรอยผุระยะเริ่มต้น ในขณะที่เชื้อในกลุ่มแลคโตบาซิลไลมีความสัมพันธ์กับฟันผุในระยะลุกลามและเป็นโพรงฟันผุแล้ว[23] โดยเชื้อในกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไคเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคฟันผุเนื่องจากมีคุณสมบัติคือ เชื้อกลุ่มนี้สามารถสร้างกรดได้จำนวนมากจากการใช้น้ำตาล สามารถคงทนอยู่รอดได้ในสภาวะที่เป็นกรด สามารถสังเคราะห์กลูแคนจากซูโครสซึ่งช่วยในการยึดติดกับฟัน นอกจากนี้เชื้อในกลุ่มแลคโตบาซิลไลก็มีความสามารถในการผลิตกรดและทนต่อกรดได้ดีเช่นเดียวกัน นอกจากนี้มีรายงานการพบเชื้อชนิดอื่นๆ เช่นเชื้อ Actinomyces spp. ที่สัมพันธ์กับ

ฟันผุในระยะเริ่มต้นและเชื้อ Bifidobacterium spp. ที่พบสัมพันธ์กับฟันผุลึก[24]

การป้องกันฟันผุ

โรคฟันผุเป็นกระบวนการที่เกิดจากการเสียสมดุลระหว่างการสูญเสียแร่ธาตุและการคืนกลับแร่ธาตุ หรือกล่าวอีกนัยว่าฟันผุเป็นการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยก่อโรคกับปัจจัยป้องกันโรค ดังนั้นกลยุทธ์ในการป้องกันการเกิดโรคฟันผุอาจแบ่งเป็น 2 แนวทาง คือการเพิ่มความต้านทานของฟันโดยการใช้ฟลูออไรด์และการเคลือบหลุมร่องฟัน อีกแนวทางคือการลดปัจจัยหรือสิ่งแวดล้อมที่เอื้อให้เกิดการสลายแร่ธาตุ เช่นการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคฟันผุซึ่งมีกระบวนการ ได้แก่ การควบคุมแผ่นคราบจุลินทรีย์ (plaque control) โดยการดูแลสุขอนามัยในช่องปาก การใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น คลอเฮ็กซีดีน การใช้สารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เช่นการใช้โพรไบโอติก การปรับพฤติกรรมการรับประทานอาหารโดยลดความถี่และจำกัดการบริโภคอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาล การใช้น้ำตาลชนิดที่แบคทีเรียไม่มีความสามารถหรือมีความสามารถในการย่อยได้น้อย เป็นต้น

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (Probiotic) มาจากภาษากรีกซึ่งมีความหมายว่า “for life” โดย United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) และ World Health Organization (WHO) ได้ให้คำนิยาม โพรไบโอติก คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพร่างกายมนุษย์[5]

โพรไบโอติกแบคทีเรียถูกนำมาใช้ประโยชน์เริ่มจากการนำมาใช้รักษาโรคทางระบบทางเดินอาหาร ในปัจจุบันโพรไบโอติกได้ถูกนำมาใช้ทางการแพทย์ เช่นการแก้ไขภาวะท้องเสีย รักษาโรคลำไส้อักเสบ รักษาโรคภูมิแพ้ รักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ รักษาช่องคลอดอักเสบจากเชื้อราเป็นต้น[15] โดยเชื้อโพรไบโอติกแบคทีเรียที่มักถูกนำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นพวก anaerobic gram positive bacilli ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*[25]

ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในปัจจุบันอยู่ในรูปแบบที่หลากหลาย ได้แก่ผลิตภัณฑ์นม โยเกิร์ต ชีส เครื่องดื่ม หมากฝรั่ง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จากการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างของประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน[26] ซึ่งหากพิจารณาในแง่ของการป้องกันฟันผุควรเลือกใช้ผลิตภัณฑ์นม โยเกิร์ต ชีส ที่ไม่มีรสหวานและมีสารเคเซอีน

แคลเซียมและฟอสเฟตในปริมาณสูง[27]

กลไกของโพรไบโอติก

กลไกการทำงานของโพรไบโอติกมีหลายประการคือ[25]

1. เป็นตัวแข่งขันในการแย่งพื้นที่และอาหารในการดำรงชีพอยู่ในร่างกายทำให้แบคทีเรียก่อโรคมีโอกาสอยู่รอดน้อยลง
2. ช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายให้พร้อมสำหรับการต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค
3. สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอื่นๆ รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรค

โพรไบโอติกกับสุขภาพช่องปาก

ในทางทันตกรรมมีการศึกษาถึงการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาโรคฟันผุ โรคปริทันต์ การติดเชื้อราแคนดิดาและภาวะกลิ่นปาก

สำหรับคุณสมบัติในทางอุดมคติของโพรไบโอติกที่ต้องการในการใช้ป้องกันการเกิดโรคในช่องปากนั้นคือ

1. สามารถเกาะติดกับผิวฟันได้
2. สามารถสร้างสารป้องกันอันตรายจากจุลชีพอื่นในช่องปากได้ เช่นกรดอินทรีย์ (organic acids) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และแบคทีริโอซิน (bacteriocins) ได้
3. มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมในช่องปากได้ เช่นสามารถควบคุมความเป็นกรดด่างหรือปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและรีดักชั่นในช่องปากได้
4. ลดการตอบสนองต่อการอักเสบได้ โดยกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันแบบไม่เจาะจง (non-specific immunity) และควบคุมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบใช้สารน้ำ (humoral immune response) และแบบใช้เซลล์ (cell-mediated immune response)[25]

การป้องกันการเกิดฟันผุโดยใช้โพรไบโอติก

Featherstone[28] ได้กล่าวถึงเรื่อง " Caries Balance" ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคฟันผุพบว่าการเกิดโรคฟันผุหรือไม่นั้นเป็นการควบคุมความสมดุลระหว่างปัจจัยสองด้านคือ ปัจจัยเกี่ยวกับการทำให้เกิดโรคกับปัจจัยที่ทำหน้าที่ป้องกันโรค ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยเกี่ยวกับการทำให้เกิดโรคประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้ ความผิดปกติของการทำหน้าที่ของต่อมน้ำลาย ความถี่ในการบริโภคอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ส่วนปัจจัยที่ทำหน้าที่ป้องกันโรคนั้นประกอบด้วยการไหลและองค์ประกอบของน้ำลาย ฟลูออไรด์ สารต้านจุลชีพ และเชื้อโพรไบโอติกที่สามารถควบคุมเชื้อก่อโรคฟันผุและอื่นๆ จากแนวคิดดังกล่าวการใช้เชื้อโพรไบโอติกที่สามารถควบคุมเชื้อก่อโรคฟันผุเพื่อลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุจึงเป็นอีกแนวทางในการป้องกันการเกิดฟันผุ โพรไบโอติกเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีผลในการลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคซึ่งเป็นเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ ดังนั้นการควบคุมเชื้อได้ย่อมส่งผลต่อการป้องกันการเกิดฟันผุ

ในการนำโพรไบโอติกมาใช้ในช่องปากเพื่อป้องกันฟันผุ มีการศึกษาพบว่าเชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ได้[16,17,25,29,30] และจากการศึกษาของกลุ่มผู้วิจัยคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันสามารถลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคในกลุ่มศึกษาที่มีสุขภาพแข็งแรงและในกลุ่มผู้ป่วยปากแหว่งเพดานโหว่ได้[16,17]

การศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการเกิดฟันผุ Nase และคณะในปี 2001[31] ได้ศึกษาผลของการบริโภคนมที่มีส่วนผสมของ *L. rhamnosus* ในเด็กอายุ 1-6 ปี จำนวน 594 คน เป็นเวลา 7 เดือนต่อการเกิดฟันผุ ผลการศึกษานี้พบว่าเด็กที่ได้รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติกโดยเฉพาะเด็กอายุ 3-4 ปี พบว่ามีปริมาณฟันผุน้อยกว่าเด็กที่อยู่ในกลุ่มควบคุม คือเด็กที่ไม่ได้รับประทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งพบการลดลงของเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนในน้ำลาย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษานี้ผู้เขียนจึงสนับสนุนว่าสามารถใช้โพรไบโอติกให้เกิดประโยชน์ต่อการป้องกันการเกิดฟันผุได้ และคาดว่านมส่วนผสมของโพรไบโอติกทำให้ลดความเสี่ยงของการเกิดฟันผุและการเกิดฟันผุระยะเริ่มต้นให้น้อยลง นอกจากนี้มีการศึกษาที่พบว่าเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนกับเชื้อแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายมีความสามารถในการเกาะกลุ่มกัน (co-aggregation) สูง ซึ่งอาจส่งผลให้เชื้อแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายไปเกาะกับเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนในน้ำลายและถูกกำจัด

โดยการกลืนจึงลดโอกาสที่เชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนจะเกาะผิวฟัน[32]

จากการศึกษาของ Comelli และคณะ[33] รายงานว่าแบคทีเรียจำนวน 23 สายพันธุ์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารมีเพียงแค่ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus lactis* เท่านั้นที่มีความสามารถในการแทรกตัวเข้าไปในไบโอฟิลม์บนผิวฟันและขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคฟันผุ ซึ่งได้แก่เชื้อ *Streptococcus sobrinus* นอกจากนี้จากการศึกษาของ Kang และคณะ [34] ยังพบว่า *W. cibaria* มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดไบโอฟิลม์และการแบ่งตัวของเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนได้

จากการศึกษาของ Petti และคณะ[35] รายงานว่าโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทางคลินิกหลายการศึกษา[26,30,31] แสดงให้เห็นว่าการบริโภคนม ชีสหรือหมากฝรั่งที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติกสามารถลดปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ทั้งในน้ำลายและคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก

การศึกษาของ Nikawa และคณะ[30] รายงานว่าการบริโภคนมที่มีส่วนผสมของเชื้อ *Lactobacillus reuteri* เป็นเวลา 2 สัปดาห์สามารถลดความเข้มข้นของเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนในน้ำลายได้มากกว่า 80% เช่นเดียวกับการศึกษาของ Caglar และคณะ[26] ที่ได้ผลในการลดเชื้อดังกล่าวได้ใกล้เคียงกันเมื่อบริโภคหมากฝรั่งที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก

ความคงอยู่ของโพรไบโอติก

การคงอยู่ของโพรไบโอติกมีความสำคัญในการคงความสามารถในการป้องกันโรคอย่างต่อเนื่องแม้ว่าจะไม่ได้รับโพรไบโอติกเพิ่มเข้าไปในร่างกาย Yli-Knuuttila และคณะในปี 2006[36] ศึกษาความคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG และ Caglar และคณะในปี 2009[37] ศึกษาความคงอยู่ของโพรไบโอติก *L.* reuteri ในช่องปากหลังจากบริโภคต่อเนื่องเป็นเวลา 14 วัน ทั้ง 2 การศึกษาพบว่าโพรไบโอติกดังกล่าวสามารถอยู่ในร่างกายได้เพียงชั่วคราวเท่านั้นโดยภายหลังจากการหยุดให้โพรไบโอติกไปแล้วพบว่าความคงอยู่ของโพรไบโอติกได้ลดลงไปเรื่อยๆและหากต้องการหวังผลให้มีโพรไบโอติกเหล่านี้อยู่ในช่องปากต้องมีการรับประทานเป็นประจำ การที่โพรไบโอติกดังกล่าวไม่สามารถดำรงอยู่ได้นานอาจเนื่องจากไม่ใช่สายพันธุ์ที่เหมาะในการอยู่ในช่องปาก และโดยทั่วไป *L. rhamnosus* GG และ *L. reuteri* เป็นสายพันธุ์ที่พบได้น้อยในช่องปากจึงเป็นการสนับสนุนข้อสังเกตที่ว่าโพรไบโอติกนี้อาจไม่ใช่สายพันธุ์ที่เหมาะสมจะใช้เป็นโพรไบโอติกที่ป้องกันโรคในช่องปาก

ความเสี่ยงของโพรไบโอติก

Lactic acid bacteria (LAB) ถูกนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกและมีการพัฒนามาอย่างยาวนานเพื่อให้ได้เชื้อสายพันธุ์ที่ดีและมีการความปลอดภัยในการบริโภคจากการทบทวนวรรณกรรมของ Borriello และคณะในปี 2003[38] ไม่พบอันตรายหรือผลข้างเคียงจากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกและไม่ทำให้เกิด opportunistic infection ในผู้บริโภค[39] อย่างไรก็ตามมีรายงานพบผลข้างเคียงได้บ้างได้แก่การติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำแต่พบว่าเกิดขึ้นในอัตราที่ต่ำ เช่นเกิดการติดเชื้อ Lactobacilli และ Bifidobacterium คิดเป็น 0.05% - 0.4% ในผู้ป่วยที่เป็นโรค infective endocarditis ส่วนการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือด (bacteremia) นั้นพบว่าตลอดระยะเวลา 30 ปี มีการรายงานการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือดเพียง 180 รายเท่านั้นโดยทั้งหมดเป็นคนที่มีโรคประจำตัวหรือเป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง[38] ซึ่งคิดเป็นน้อยกว่า 1 ในล้านและพบการเกิดการติดเชื้อราเข้าสู่กระแสเลือด (fungiemia) พบเพียง 1 ใน 5.6 ล้าน โดยเชื้อโพรไบโอติกที่ทำให้เกิดการติดเชื้อมากที่สุด คือ *Enterococcus faecium* และ *Enterococcus faecalis* และในกรณีที่ติดเชื้อมักเป็นเชื้อที่มาจาก microflora โดยพบว่าความเสี่ยงที่จะเกิดผลข้างเคียงจากโพรไบโอติกขึ้นกับสุขภาพของ host เป็นสำคัญ[40] เช่นในคนที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือผู้ป่วย life-threatening illness จะต้องระมัดระวังในการใช้เป็นพิเศษ โดยสรุปการใช้โพรไบโอติกในคนที่มีสุขภาพแข็งแรงยังไม่มีรายงานของผลข้างเคียง นอกจากนี้ปริมาณโพรไบโอติกที่ใช้การศึกษานี้ได้กำหนดไว้คือปริมาณเชื้อที่มีชีวิตอยู่เป็น 10^7-10^8CFU/ml ซึ่งเป็นไปตามการรายงานของ Ishibashi และ Yamazaki ในปี 200[41] การศึกษาของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในกลุ่มศึกษาทั้ง 3 การศึกษาที่ผ่านมาได้กำหนดปริมาณเชื้อดังกล่าวเท่ากับ 10^8CFU/ml และไม่พบผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกในทุกการศึกษา[16–18,42]

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์หลัก: เพื่อศึกษาผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและสภาวะฟันผุในกลุ่มเด็กเล็ก

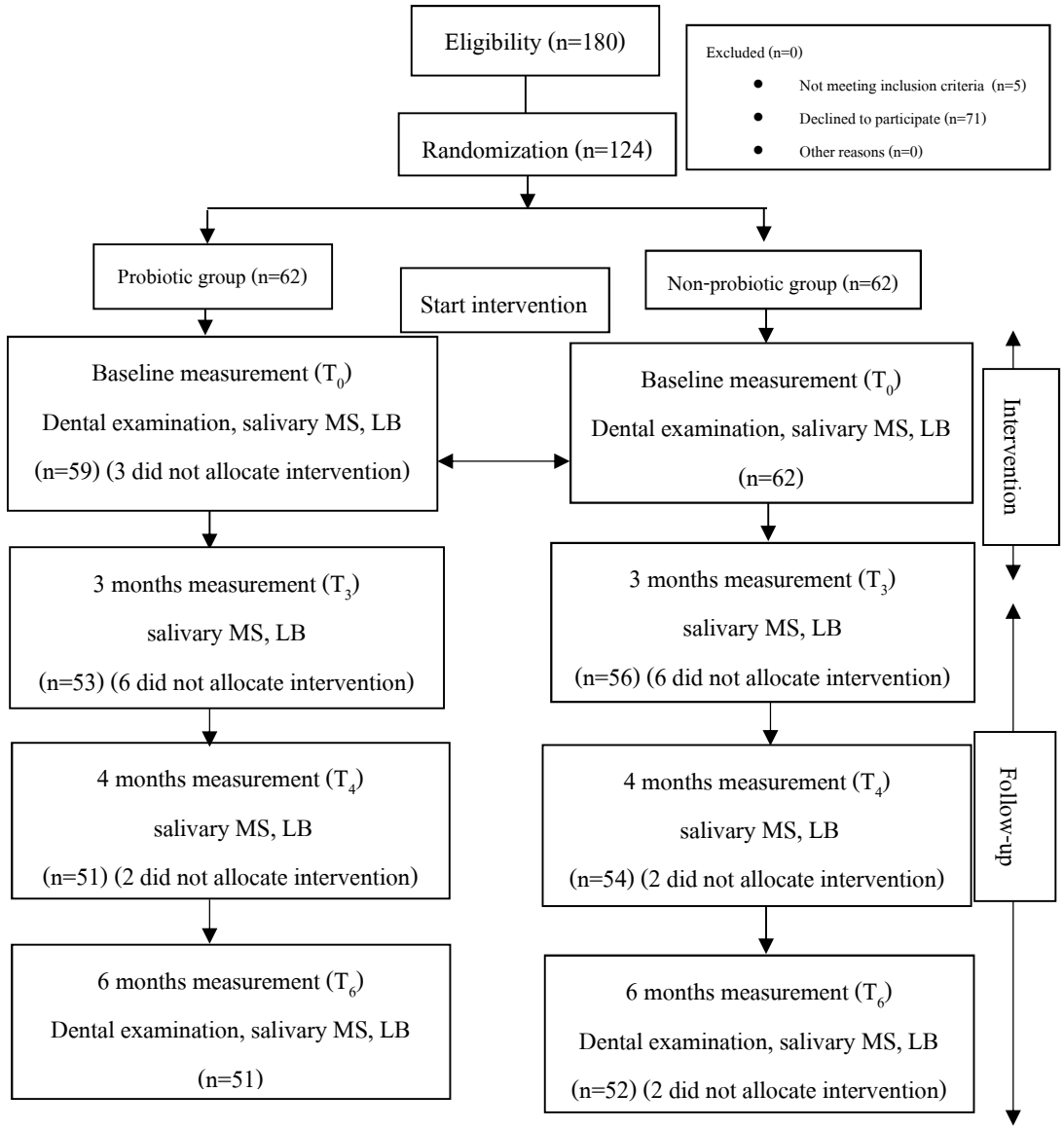
วัตถุประสงค์รอง: เพื่อศึกษาความคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในช่องปากของเด็กเล็กหลังจากการทานนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมในกลุ่มเด็กเล็ก โดยมีขั้นตอนการทำงานดังแผนภาพในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำงานในการศึกษาวิจัย

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เนื่องจากต้องการ 2 กลุ่มตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของประชากรสองกลุ่ม โดยที่แต่ละกลุ่มตัวอย่างเป็นอิสระต่อกัน ใช้สูตรการคำนวณโดยใช้สูตรดังกล่าว

$$N/group = \frac{(z\alpha\sqrt{2\bar{P}\bar{Q}} \pm Z\beta\sqrt{PcQc+PtQt})^2}{(Pc-Pt)^2}$$

โดยกำหนดค่าต่างดังนี้

One-sided test

$z\alpha = 1.645$ ($\alpha = 0.05$)

$Z_\beta = 0.84$ (power = 80%)

$P_c = 0.375$, $P_t = 0.667$

$\bar{P} = (\bar{P_c} + \bar{P_t})/2 = 0.521$

$Q = 1-P$, $Q_c = 0.625$, $Q_t = 0.333$

$\bar{Q} = 1-0.521 = 0.479$

จากการคำนวณด้วยค่าดังกล่าวข้างต้นจะได้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 35 คน โดยเมื่อเพิ่มกลุ่มตัวอย่างอีก 30 % เพื่อสำรองการลดลงของกลุ่มตัวอย่าง เช่นการย้ายที่อยู่ ปฏิเสธการรักษาในระหว่างการเข้าร่วมการวิจัยเป็นต้น ดังนั้นกลุ่มที่จะทำการศึกษาคือกลุ่มละ 46 คน

ตัวอย่างในการศึกษา คัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัยโดยสุ่มจากเด็กเล็กในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในจังหวัดสงขลา จำนวน 124 คน ซึ่งได้รับความยินยอมจากผู้ปกครองให้สามารถเข้าร่วมในโครงการได้

เกณฑ์การคัดเข้าของกลุ่มตัวอย่าง

1. อายุอยู่ระหว่าง 1-5 ปี
2. ไม่มีประวัติทางการแพทย์ที่มีโรคประจำตัว
3. ไม่มีประวัติการแพ้นมวัวและหรือแลคโตส
4. ไม่มีประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพมาก่อนเข้าร่วมโครงการในเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์
5. เด็กที่สามารถให้ความร่วมมือในการตรวจฟันหรือเก็บเชื้อในช่องปาก
6. เด็กที่ไม่ได้รับฟลูออไรด์เสริมอย่างน้อย 3 เดือนก่อนหรือในระหว่างการวิจัย

การแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

เด็กจำนวน 124 คน ที่ผู้ปกครองให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและเข้าเกณฑ์การคัดเข้าโดยจะแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่มด้วยวิธี Randomization โดยใช้ตารางเลขสุ่ม (table of random numbers) ในการแบ่งเข้ากลุ่มดังนี้

ตัวอย่างกลุ่มที่ 1 กลุ่มทดลอง ซึ่งได้รับนมผง (นมวัว) ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน

ตัวอย่างกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งได้รับนมผงปกติ (นมวัว)

การออกแบบการทดลองเป็นแบบปิดสองทาง (Double Blind) คือ

1. กลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมการวิจัยไม่ทราบว่าตัวเองอยู่กลุ่มใด เนื่องจากลักษณะของนมผงที่ให้เป็นนมผงที่มีลักษณะเดียวกัน ไม่สามารถแยกออกจากกันได้
2. ผู้วิจัยไม่ทราบว่านมผงที่กลุ่มตัวอย่างแต่ละคนได้รับเป็นนมผงกลุ่มใด โดยจะมีผู้ช่วยวิจัยที่จะเตรียมนมผงในซองซิปขนาดเล็กที่ติดลำดับหมายเลขตามเลขที่จากตารางเลขสุ่ม รวมทั้งผู้ตรวจฟันและเก็บตัวอย่างน้ำลายจะไม่ทราบกลุ่มของกลุ่มศึกษาที่ตนตรวจด้วย

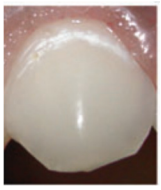
ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรต้น การได้รับนมผง (นมวัว) ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน
2. ตัวแปรตาม
    - ก. ระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคในน้ำลาย
    - ข. สภาวะฟันผุในช่องปาก
    - ค. การคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน
3. ตัวแปรควบคุม
    - ก. พฤติกรรมการทำความสะอาดช่องปาก
    - ข. การใช้ยาสีฟันฟลูออไรด์ในปริมาณที่เหมาะสม
    - ค. การได้รับฟลูออไรด์เสริมก่อนและระหว่างการวิจัย

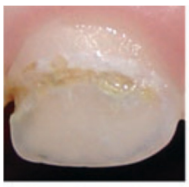
การตรวจฟัน

ผู้ทำการตรวจฟัน: เป็นผู้เชี่ยวชาญ (อาจารย์ทันตแพทย์ประจำสาขาทันตกรรมสำหรับเด็ก ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) จำนวน 3 คนที่ได้รับการปรับมาตรฐานการตรวจและทำการตรวจฟันโดยใช้เกณฑ์การตรวจฟัน (ปรับปรุงจากดัชนี Nyvad และคณะ 2011 โดยผู้วิจัย)[43] ดังตารางที่ 1 ด้วยกระจกส่องปากและ probe WHO-621 โดยใช้แสงจากไฟฉายในการตรวจ

ตารางที่ 1 แสดงเกณฑ์การตรวจฟันผุ (ปรับปรุงจากดัชนี Nyvad และคณะ 2011)[43]

Score	**Category**	**Criteria**
0	Sound	ฟันปกติ
1 	Active caries (intact surface)	ผิวฟันเป็นสีขาวขุ่น หรือเหลือง (opaque) สูญเสียความเป็นมัน (loss of luster) เมื่อลาก probe ผ่านรู้สึกขรุขระ (rough) มักพบในบริเวณที่มีคราบจุลินทรีย์ปกคลุมและยังไม่มีการสูญเสียผิวฟัน
2	Inactive caries (intact surface or surface discontinuity)	ผิวฟันเป็นสีขาว น้ำตาล หรือดำ เป็นมันวาว (shiny) เมื่อลาก probe ผ่านรู้สึกแข็งและเรียบ (hard and smooth) ยังไม่มีการสูญเสียผิวฟัน หรือมีการสูญเสียผิวฟันเป็นรูเล็กๆเฉพาะที่ผิวชั้นเคลือบฟัน ไม่มีความผิดปกติใต้ชั้นเคลือบฟัน ไม่มีพื้นนิ่มเมื่อตรวจด้วยเครื่องมือตรวจ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Score	Category	Criteria
3	Inactive caries (cavity)	มีรอยผุเป็นโพรงถึงชั้นเนื้อฟัน พื้นผิวเป็นมัน แข็ง เมื่อตรวจด้วยเครื่องมือตรวจ ไม่ผุทะลุประสาทฟัน
4 	Active caries (surface discontinuity and microcavity)	เหมือน score 1 แต่มีการสูญเสียผิวฟันเป็นรูเล็กๆ (microcavity) เฉพาะที่ผิวชั้นเคลือบฟัน ไม่มีความผิดปกติใต้ชั้นเคลือบฟัน (undermined enamel) ไม่มีพื้นนิ่มเมื่อตรวจด้วยเครื่องมือตรวจหรือมีรอยผุใต้ชั้นเคลือบฟันเป็นโพรงมองเห็นด้วยตาเปล่า มีพื้นหรือผนังนิ่ม (soft or leathery) เมื่อตรวจด้วยเครื่องมือตรวจ การผุอาจถึงประสาทฟันหรือไม่ก็ได้
5	Extraction from caries	ฟันที่ยังไม่ถึงเวลาหลุดแต่หายไปก่อนกำหนด โดยเฉพาะเมื่อตรวจฟันครั้งแรกแล้วพบว่ามีรอยโรคฟันผุ

การควบคุมคุณภาพของข้อมูล

1. การตรวจฟันโดยผู้เชี่ยวชาญ 3 คน ได้รับการปรับมาตรฐานระหว่างกันโดยวัด inter-examiner reliability มีค่า kappa = 0.57 และผ่านการทดสอบ reproducibility ของผู้ตรวจก่อนเริ่มการศึกษา ซึ่งวัด intra-examiner reliability มีค่า kappa = 0.98-0.99 สำหรับการตรวจระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคในระหว่างการศึกษาจะมีการอ่านผลซ้ำร้อยละ 50 ของตัวอย่างทั้งหมด เพื่อทดสอบค่าความเที่ยงของการอ่านผล ซึ่งวัด intra-examiner reliability มีค่า kappa = 0.84-0.85

2. การควบคุมคุณภาพโดยทำการปกปิดสองทางคือมีการให้นมผงปกติ (นมวัว) และนมผง (นมวัว) ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในกลุ่มศึกษาและผู้ตรวจไม่ทราบว่ากลุ่มศึกษาที่ได้รับการตรวจอยู่ในกลุ่มศึกษาใด

การเตรียมนมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน

สำหรับการเตรียมนมผงที่ใช้ในงานวิจัยจะทำการเตรียมโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมีการวัดคุณสมบัติของนมผงโดยกำหนดให้นมผงโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมีปริมาณเชื้อที่มีชีวิต 10^7-10^8 CFU/ml [41] โดยจะมีการตรวจวัดให้ได้ค่าตามที่กำหนดก่อนนำไปใช้งาน

การประเมินการการใช้นมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในผู้เข้าร่วมวิจัย

เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับนมผงที่ทางคณะวิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้ปริมาณ 5 กรัม/วัน โดยให้ผสมน้ำประมาณ 200 ซีซี และดื่มทุกวัน วันละ 1 ครั้งโดยครูพี่เลี้ยงชงให้เด็กที่เข้าร่วมวิจัยทานทุกวันจันทร์ถึงศุกร์ที่โรงเรียนและแจกให้ผู้ปกครองชงให้เด็กทานที่บ้านในวันเสาร์และวันอาทิตย์ รวมระยะเวลาทั้งหมด 3 เดือนและทางผู้วิจัยจะมีการกำหนดให้ครูพี่เลี้ยงจดบันทึกการทานนมของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษาทุกวันรวมทั้งมีการติดตามอาการแพ้หรือผลข้างเคียงจากการทานนมจากครูผู้พี่เลี้ยงตลอดการศึกษา หากเด็กมีอาการแพ้หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากนมที่ได้รับ ได้แก่อาการคลื่นไส้ อาเจียน มีน้ำลาย

มาก ปวดท้อง ท้องเสีย เป็นผื่นแพ้ ครูพี่เลี้ยงและผู้ปกครองสามารถให้เด็กหยุดทานนมและลงข้อมูลในแบบบันทึกอาการข้างเคียงรวมทั้งแจ้งให้ทางทีมผู้วิจัยทราบได้ทันทีเพื่อให้ทางทีมผู้วิจัยได้ตรวจสอบและทำการแก้ไขปัญหาได้ โดยเด็กที่เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการตรวจฟัน ผู้วิจัยบันทึกค่าฟันผุและเก็บน้ำลายในช่วงเวลาต่างๆดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงช่วงเวลาในการตรวจฟันและเก็บน้ำลาย

T (เวลา)	การตรวจฟัน	การเก็บน้ำลาย
T_0 (ก่อนการให้ intervention)	/	/
T_3 (หลังจากหยุดทานนม)		/
T_4 (หลังจากหยุดทานนมมาแล้ว 1 เดือน)		/
T_6 (หลังจากหยุดทานนมมาแล้ว 3 เดือน)	/	/

การเก็บตัวอย่างน้ำลายสำหรับการตรวจเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไล

วิธีการเก็บตัวอย่าง

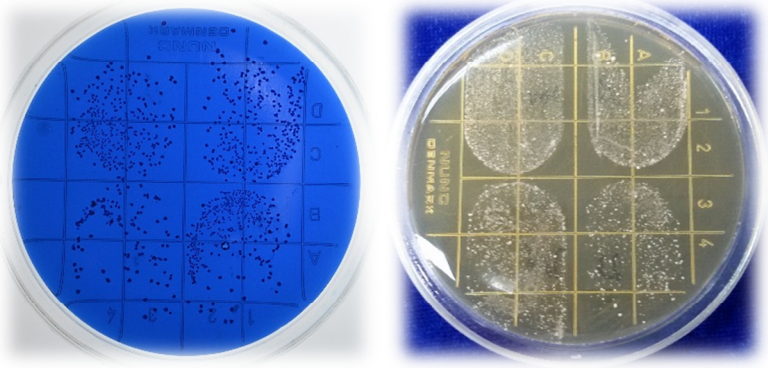
ทันตแพทย์ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายใช้วิธี modified spatula method [44] โดยใช้ไม้กดลิ้นขนาดความกว้าง 1.8 มิลลิเมตรจับที่บริเวณกึ่งกลางของไม้โดยไม่ให้สัมผัสบริเวณอื่น วางปลายไม้กดลิ้นให้สัมผัสน้ำลายในช่องปากของเด็ก กำจัดน้ำลายส่วนเกินโดยปาดออกที่ริมฝีปากของเด็ก หลังจากนั้นนำไม้กดลิ้นที่ได้กดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis-salivarius agar with bacitracin (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD 21152 USA), MRS agar บน Petri dishes สำหรับเลี้ยงเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลตามลำดับ ซึ่งจะมีพื้นที่สัมผัสของน้ำลายประมาณ 1.5 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 ด้านผิวสัมผัสของไม้กดลิ้น ใช้ 2 ด้านผิวสัมผัสของไม้กดลิ้นต่อเด็ก 1 คน

รูปที่ 2 แสดงวิธีการการเก็บตัวอย่างน้ำลายใช้วิธี Modified spatula method

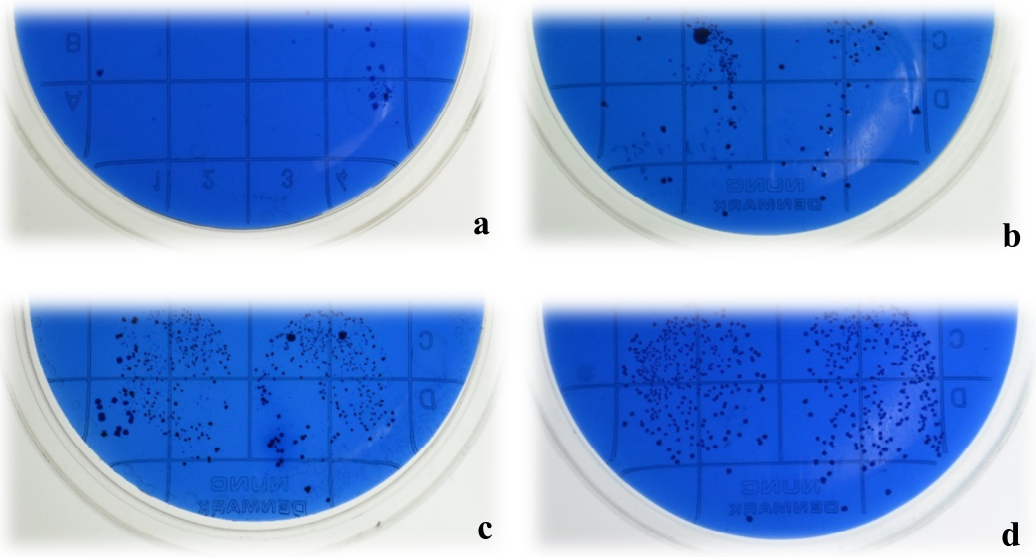
การเพาะเชื้อและนับจำนวนโคโลนี

จานเพาะเลี้ยงจะถูกส่งไปยังห้องปฏิบัติการภายใน 2 ชั่วโมงโดยจะทำการเลี้ยงเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคใน candle jar (carbondioxide-rich environment) ที่อุณหภูมิ 37° C 5% CO_2 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแลคโตบาซิลไลทำการเพาะเลี้ยงในตู้ incubator (anaerobic chamber) ที่อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บข้อมูลจำนวนโคโลนีของเชื้อเป็นระดับของ Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร ซึ่งแบ่งเป็นระดับขั้นดังนี้:

1) 0-10 CFU/1.5 cm^2, 2) 11-50 CFU/1.5 cm^2, 3) 51-100 CFU/1.5 cm^2 และ 4) >100 CFU/1.5 cm^2 สำหรับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแลคโตบาซิลไล



รูปที่ 3 แสดง Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร ของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแลคโตบาซิลไล



รูปที่ 4 แสดงระดับโคโลนีของเชื้อเป็นระดับของ Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร แบ่งเป็นระดับดังนี้: a) 0-10 CFU/1.5 cm^2, b) 11-50 CFU/1.5 cm^2, c) 51-100 CFU/1.5 cm^2 และ d) >100 CFU/1.5 cm^2

ความคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน

เชื้อแลคโตบาซิลไลที่มีลักษณะของโคโลนีจากจานเพาะเลี้ยง MRS agar คล้ายลักษณะของโคโลนีของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันจะถูกนำมาเพาะเลี้ยงต่อ และนำไปตรวจสอบขั้นต้นด้วยการย้อมแกรมเพื่อดูลักษณะรูปร่างของเชื้อดังกล่าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีลักษณะใกล้เคียงกับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันแล้วจึงจะเก็บเชื้อดังกล่าวไปตรวจสอบ DNA fingerprint pattern ต่อด้วยวิธี APPCR ด้วยการใช้ primer ERIC1R: forward (5′-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3′) และ ERIC2: reverse (5′-AAGTAAGTGACTGG GGTGAGCG-3′) วิธี APPCR จะทำให้ได้ลักษณะ DNA fingerprint pattern ซึ่งจะบอกลักษณะเฉพาะของเชื้อแต่ละตัวได้

ลักษณะของ DNA fingerprint pattern สามารถใช้ในการวิเคราะห์การคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันจากเชื้อแลคโตบาซิลไลที่แยกมาจากน้ำลายของกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม โดยในการสกัด DNA จากเชื้อแลคโตบาซิลไลที่ได้ถูกคัดเลือกมานั้นใช้

ชุดสกัด Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตในการสกัด DNA จากแบคทีเรียแกรมบวก

Outcome Definition

1.ระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลวัดเป็นจำนวนโคโลนีของเชื้อแต่ละชนิดโดยระดับของ Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร แบ่งเป็นระดับขั้นดังนี้: 1) 0-10 CFU/1.5 cm^2, 2) 11-50 CFU/1.5 cm^2, 3) 51-100 CFU/1.5 cm^2 และ 4) >100 CFU/1.5 cm^2 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระดับปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น คงที่ และลดลง มีรายละเอียดดังนี้

<u>เพิ่มขึ้น</u> คือ การเปลี่ยนแปลงระดับเชื้อจากระดับที่น้อยกว่าไปสู่ระดับที่มากขึ้น คือ จากระดับ 1 เป็นระดับ 2 หรือ 3 หรือ 4

จากระดับ 2 เป็นระดับ 3 หรือ 4

จากระดับ 3 เป็นระดับ 4

<u>คงที่</u> คือ ระดับเชื้อคงเดิม

<u>ลดลง</u> คือ การเปลี่ยนแปลงระดับเชื้อจากระดับที่สูงไปสู่ระดับที่ต่ำกว่า คือจากระดับ 2 เป็นระดับ 1

จากระดับ 3 เป็นระดับ 2 หรือ 1

จากระดับ 4 เป็นระดับ 3 หรือ 2 หรือ 1

2.การตรวจฟันใช้เกณฑ์การตรวจฟัน ปรับปรุงจากดัชนี Nyvad และคณะ 2011 โดยแบ่งออกเป็น 6 ระดับคะแนนจาก 0-5 การเปลี่ยนแปลงระดับฟันผุของด้านฟัน แบ่งเป็นฟันผุเพิ่มขึ้น คงที่ และลดลง มีรายละเอียดดังนี้

2.1 ฟันผุเพิ่มขึ้น (Caries progression) คือ การเปลี่ยนแปลงระดับคะแนน

จากระดับ 0 เป็นระดับ 1 หรือ 2 หรือ 3 หรือ 4 หรือ 5

จากระดับ 1 เป็นระดับ 3 หรือ 4 หรือ 5

จากระดับ 2 เป็นระดับ 1 หรือ 3 หรือ 4 หรือ 5

จากระดับ 3 เป็นระดับ 4 หรือ 5

จากระดับ 4 เป็นระดับ 5

2.2 ฟันผุคงที่ (Caries stable) คือ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับคะแนน

2.3 ฟันผุลดลง (Caries regreesion) คือ การเปลี่ยนแปลงระดับคะแนน

จากระดับ 1 เป็นระดับ 2

จากระดับ 4 เป็นระดับ 3

การประเมินการเปลี่ยนแปลงของฟันผุว่ามีการลุกลามหรือไม่ลุกลามสามารถประเมินได้ดังนี้ การลุกลามหมายถึงฟันผุเพิ่มขึ้นตามข้อ 2.1 และฟันผุไม่ลุกลามหมายถึงฟันผุคงที่และฟันผุลดลงตามข้อ 2.2 และ 2.3

3.ร้อยละของการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซีอายเอสดีวันในกลุ่มโพรไบโอติก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. สถิติเชิงพรรณนาของลักษณะประชากรของกลุ่มศึกษา เช่นการหาค่าเฉลี่ย (mean), ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ในการวิเคราะห์อายุเด็ก

2. สถิติเชิงพรรณนาของตัวแปรตามที่วัดได้ เช่นความถี่และการกระจายของการเกิดฟันผุใหม่และระดับเชื้อในน้ำลายตามกลุ่มศึกษา

3. เปรียบเทียบลักษณะประชากรของกลุ่มศึกษาระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมโดยใช้ Mann-Whitney U test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ *p*-value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05 (ข้อมูลการแจกแจงแบบไม่ปกติ)

4. เปรียบเทียบการกระจายของระดับของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมโดยใช้ chi-squared test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ *p*-value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05

5. เปรียบเทียบสัดส่วนของการลุกลามและไม่ลุกลามรอยโรคฟันผุระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมโดยใช้ chi-squared test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ *p*-value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05

6. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของจำนวนซี่ฟันผุและจำนวนด้านฟันผุระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นเป็นกลุ่มที่มีจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นต่ำ ปานกลางและสูงโดยใช้ Mann-Whitney U test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ *p*-value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05 (ข้อมูลการแจกแจงแบบไม่ปกติ)

7. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของจำนวนด้านที่มีฟันผุที่ด้านหลุมร่องฟันและจำนวนด้านที่มีฟันผุที่ด้านเรียบระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นเป็นกลุ่มที่มีจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นต่ำ ปานกลางและสูง โดยใช้ Mann-

Whitney U test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ *p*-value น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05 (ข้อมูลการแจกแจงแบบไม่ปกติ)

8. เปรียบเทียบร้อยละของการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในกลุ่มโพรไบโอติก

จรรยาบรรณของผู้วิจัยการตรวจสอบจริยธรรมการวิจัย

การวิจัยนี้ได้นำเสนอเพื่อการพิจารณาของคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์และผ่านความเห็นชอบเรียบร้อยแล้ว ตามใบรับรองการตรวจสอบจริยธรรม (EC5702-08L-HR) ในภาคผนวก ก ก่อนเก็บข้อมูลการวิจัย

2.2 วัสดุ

1. นมผงปกติ
2. นมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมีปริมาณเชื้อที่มีชีวิต 10^7-10^8 CFU/ml
3. probe WHO-621
4. ผ้าก๊อซ (Gauze) ขนาด 2 x 2 นิ้ว
5. อุปกรณ์หยิบผ้าก๊อซหรือสำลี (forceps)
6. ไฟฉายส่องปาก
7. ถุงมือ
8. ชุดตรวจฟัน ประกอบด้วย explorer และ mouth mirror
9. แปรงสีฟัน
10. ไม้กดลิ้น (Wooden spatula) ขนาดความกว้าง 1.8 มิลลิเมตร
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis- salivarius agar with bacitracin (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD 21152 USA) สำหรับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar (Conda, Pronadisa, Spain) สำหรับเชื้อแลคโตบาซิลไล
13. Petri dishes (Nunc, Copenhagen, Denmark)
14. ชุดสกัดดีเอนเอ Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan)

15. สารเคมีสำหรับการทำ DNA fingerprinting by arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก ชนิด 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง (Sartorius analytic รุ่น E5500s: Scientific promotion Co., LTD, USA)
2. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ขนาด 400 ลิตร (Binder; Scientific promotion Co., LTD, USA)
3. หม้อนึ่งควบคุมความดันไอน้ำ (Autoclave: Tomy, Tokyo, Japan)
4. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
5. ชุดอุปกรณ์สำหรับการทำ DNA fingerprinting by arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR)

บทที่ 3

ผลการวิจัย

มีกลุ่มศึกษาที่ร่วมการวิจัยครั้งนี้ทั้งสิ้น 124 คน อายุอยู่ในช่วง 15-60 เดือน โดยมีอายุเฉลี่ย 41.06 ± 9.18 เดือน พบว่าเป็นเพศชาย 61 คน (ร้อยละ 49.2) เพศหญิง 63 คน (ร้อยละ 50.8) แบ่งเป็นกลุ่มโพรไบโอติก 62 คนได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน และกลุ่มควบคุม 62 คนได้รับนมผงปกติซึ่งเป็นนมผงที่มีลักษณะทางกายภาพคล้ายคลึงกันกับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาที่ทำการวิจัยเป็นเวลา 6 เดือน พบว่ามีกลุ่มศึกษาจำนวน 21 คน (ร้อยละ 16.9) ที่ไม่สามารถเข้าร่วมการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ครบตามกำหนดในทุกๆ ระยะเวลาเป็นเวลาทั้งสิ้น 6 เดือนได้ เนื่องจากมีเด็กบางส่วนที่ย้ายออกจากโรงเรียนก่อนได้รับนมโพรไบโอติกจนครบกำหนด เด็กขาดเรียนในวันที่ผู้วิจัยไปเก็บน้ำลายและหรือตรวจฟันเป็นต้น โดยอยู่ในกลุ่มโพรไบโอติก 11 คน และกลุ่มควบคุม 10 คน

จากการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า เพศ อายุเฉลี่ย ระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและเชื้อแลคโตบาซิลไลในน้ำลายที่เวลาเริ่มต้น รวมทั้งจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3 และ 4 ส่วนใหญ่ของกลุ่มศึกษาร้อยละ 76.7 (79 คน) มีฟันขึ้นครบ 20 ซี่แล้ว โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนฟันผุเริ่มต้นสูงถึง 9.72±5.99 ซี่/คน โดยที่ร้อยละ 68.93 (71 คน) ของเด็กมีจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นสูง $\geq$6 ซี่ และมีเด็กเพียงร้อยละ 8.74 (9 คน) ที่ปราศจากฟันผุ

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของเด็กตามช่วงอายุต่างๆคือ 15-30, 31-42 และ 42-60 เดือน พบว่าเด็กทั้งในกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุม มีระดับอายุในช่วงต่างๆไม่แตกต่างกัน รายละเอียดแสดงในตารางที่ 5 และจากการเปรียบเทียบจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้นแบ่งตามระดับคะแนนของฟันผุ พบว่าฟันผุโดยรวม (ระดับ 1-4) และฟันผุเฉพาะผิวเคลือบฟัน (ระดับ 1-2) ระหว่างกลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) แต่จำนวนซี่ฟันผุที่ลึกถึงเนื้อฟัน (ระดับ 3-4) ที่เวลาเริ่มต้นระหว่างกลุ่ม โพรไบรโอติกและกลุ่มควบคุม พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) โดยในกลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนฟันผุเริ่มต้น 7.45±5.52 ซี่ และกลุ่มควบคุมมีจำนวนฟันผุเริ่มต้น 5.25±5.07 ซี่ รายละเอียดแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามเพศ ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล แบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น

ตัวแปร		กลุ่มศึกษาทั้งหมด (n=103)	กลุ่มโพรไบโอติก (n = 51)	กลุ่มควบคุม (n = 52)	*p*-value
เพศ	เพศชาย	53 (51.46)	22 (43.1)	31 (59.6)	0.094
	เพศหญิง	50 (48.54)	29 (56.9)	21 (40.4)	
ระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ที่ T_0 ($CFU/1.5cm^2$)	0-10	27 (26.21)	11 (21.6)	16 (30.8)	0.268
	11-50	23 (22.33)	9 (17.6)	14 (26.9)	
	51-100	19 (18.45)	10 (19.6)	9 (17.3)	
	>100	34 (33.01)	21 (41.2)	13 (25)	
ระดับปริมาณเชื้อแลคโตบาซิลไลที่ T_0 ($CFU/1.5cm^2$)	0-10	16 (15.53)	8 (15.7)	8 (15.4)	0.973
	11-50	18 (17.48)	8 (15.7)	10 (19.2)	
	51-100	12 (11.65)	6 (11.8)	6 (11.5)	
	>100	57 (55.34)	29 (56.9)	28 (53.8)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุ จำนวนซี่ฟันผุ และด้านฟันผุ แบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น

ตัวแปร	กลุ่มศึกษาทั้งหมด (n=103)	กลุ่มโพรไบโอติก (n = 51)	กลุ่มควบคุม (n = 52)	*p*-value
อายุ (เดือน)	41.06±9.19	42.45 ± 9.29	39.69 ± 8.96	0.113
จำนวนซี่ฟันผุ (dtT_0)	9.72±5.99	10.61 ± 5.81	8.85 ± 6.09	0.132
จำนวนด้านฟันผุ (dsT_0)	23.50±19.06	27.08 ± 19.85	19.98 ± 17.75	0.066

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนร้อยละของเด็กแบ่งตามช่วงอายุ และแบ่งตามกลุ่มศึกษา

อายุ (เดือน)	กลุ่มศึกษา			*p*-value
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	กลุ่มควบคุม (n=52)	รวม (n=103)	
15-30	5 (4.85)	7 (6.80)	12 (11.65)	0.650
31-42	18 (17.48)	21 (20.39)	39 (37.87)	0.649
43-60	28 (27.18)	24 (23.30)	52 (50.48)	0.361

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่ฟันผุที่ระดับช่วงคะแนน และแบ่งตามกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น

จำนวนฟันผุ	กลุ่มศึกษา			*p*-value
	ทั้งหมด	กลุ่มโพรไบโอติก	กลุ่มควบคุม	
dtT_0 (Score 1-4)	9.72±5.99	10.61±5.81	8.85±6.09	0.132
dtT_0 (Score 1-2)	3.38±2.86	3.16±2.43	3.59±3.23	0.767
dtT_0 (Score 3-4)	6.34±5.39	7.45±5.52	5.25±5.07	0.040*

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากข้อมูลพื้นฐานระหว่างกลุ่มศึกษา แม้ว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของเพศชายและหญิงระหว่างกลุ่มศึกษา (*p*-value=0.094) ซึ่งค่าดังกล่าวมีค่าใกล้เคียง 0.05 ผู้วิจัยจึงนำตัวแปรเพศมาทดสอบทางสถิติกับตัวแปรตาม คือ ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และเชื้อแลคโตบาซิลไล เพื่อให้แน่ใจว่าตัวแปรเพศไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามที่ศึกษา ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเพศและระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และเชื้อแลคโตบาซิลไล พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค และแบ่งตามเพศ

เพศ	ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค (CFU/1.5cm^2)				*p*-value
	0-10	11-50	51-100	>100	0.192
ชาย (n=53)	18 (17.47)	10 (9.71)	7 (6.80)	18 (17.47)	
หญิง (n=50)	9 (8.74)	13 (12.62)	12 (11.65)	16 (15.54)	
รวม (n=103)	27 (26.21)	23 (22.33)	19 (18.45)	34 (33.01)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กแบ่งตามระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล และแบ่งตามเพศ

เพศ	ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค (CFU/1.5cm^2)				*p*-value
	0-10	11-50	51-100	>100	0.558
ชาย (n=53)	8 (7.77)	12 (11.65)	6 (5.82)	27 (26.21)	
หญิง (n=50)	8 (7.77)	6 (5.82)	6 (5.82)	30 (29.13)	
รวม (n=103)	16 (15.54)	18 (17.47)	12 (11.64)	57 (55.34)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลการตรวจเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลของกลุ่มศึกษา

หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาที่ทำการวิจัยเป็นเวลา 6 เดือน พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลในน้ำลาย โดยผลของเชื้อที่เวลาเริ่มต้น 3เดือน 4 เดือน และ 6 เดือน แสดงดังตารางที่ 5 และ 6

การตรวจเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลทำโดยการเก็บตัวอย่างน้ำลายใช้วิธี Modified spatula method [44] และทำการเก็บข้อมูลจำนวนโคโลนีของเชื้อเป็นระดับของ Colony Forming Unit (CFU) ต่อพื้นที่ 1.5 ตารางเซนติเมตร โดยระดับของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลแบ่งได้เป็นระดับดังนี้ 1) 0-10 CFU/1.5cm^2 2) 11-50 CFU/1.5cm^2 3) 51-100 CFU/1.5cm^2 และ 4) >100 CFU/1.5cm^2

ข้อมูลจากการตรวจเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค แบ่งตามระดับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในน้ำลายของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้น 3, 4 และ 6 เดือนของกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการเปรียบเทียบการกระจายของระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและแลคโตบาซิลไลระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมที่เวลาเริ่มต้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) แต่ที่เวลา 3 เดือน กลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนเด็กที่มีเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคในระดับสูง (>100 CFU/1.5cm^2) ที่น้อยลงเมื่อเทียบกับที่เวลาเริ่มต้นและน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 9

ข้อมูลจากการตรวจเชื้อแลคโตบาซิลไลที่เวลา 3 เดือน กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อแลคโตบาซิลไลที่ระดับสูง (51-100 และ >100 CFU/1.5cm2) มากกว่า เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 10

ข้อมูลจำนวนและร้อยละของเด็กที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่ช่วงเวลา 3 เดือน (T_3) เปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น พบว่ากลุ่มโพรไบโอติก มีการเปลี่ยนแปลงของระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคลดลง และคงที่ในระดับต่ำคือ คงที่ในระดับ 0-10 CFU/1.5cm^2 และ 11-50 CFU/1.5cm^2 มากกว่าในกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับเด็กในกลุ่มควบคุมซึ่งพบเด็กที่มีการเปลี่ยนแปลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคเพิ่มขึ้นและคงที่ในระดับสูง คือคงที่ในระดับ 50-100 CFU/1.5cm^2 และ >100 CFU/1.5cm^2 มากกว่าในกลุ่มโพรไบโอติก ซึ่งพบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 9 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 4 เดือน และ 6 เดือน แบ่งตามกลุ่มศึกษา

เวลา	กลุ่มศึกษา	ระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค (CFU/1.5cm^2)				*p*-value
		0-10	11-50	51-100	>100	
T_0	กลุ่มควบคุม (n=52)	16 (30.8)	14 (26.9)	9 (17.3)	13 (25)	0.268
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	11 (21.6)	9 (17.6)	10 (19.6)	21 (41.2)	
T_3	กลุ่มควบคุม (n=52)	14 (26.9)	11 (21.2)	8 (15.4)	19 (36.5)	0.022*
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	28 (54.9)	9 (17.6)	6 (11.8)	8 (15.7)	
T_4	กลุ่มควบคุม (n=52)	17 (32.7)	8 (15.4)	10 (19.2)	17 (32.7)	0.515
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	20 (39.2)	9 (17.6)	12 (23.5)	10 (19.6)	
T_6	กลุ่มควบคุม (n=52)	16 (30.8)	9 (17.3)	11 (21.2)	16 (30.8)	0.949
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	14 (27.5)	11 (21.6)	11 (21.6)	15 (29.4)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-squre test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.022)

ตารางที่ 10 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่ระดับเชื้อแลคโตบาซิลไลที่เวลาเริ่มต้น 3 เดือน 4 เดือนและ 6 เดือน แบ่งตามกลุ่มศึกษา

เวลา	กลุ่มตัวอย่าง	ระดับเชื้อแลคโตบาซิลไล (CFU/1.5cm^2)				*p*-value
		0-10	11-50	51-100	>100	
T_0	กลุ่มควบคุม (n=52)	8 (15.4)	10 (19.2)	6 (11.5)	28 (53.8)	0.973
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	8 (15.7)	8 (15.7)	6 (11.8)	29 (56.9)	
T_3	กลุ่มควบคุม (n=52)	8 (15.4)	10 (19.2)	4 (7.7)	30 (57.7)	0.040*
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	3 (5.9)	9 (17.6)	14 (27.5)	25 (49.0)	
T_4	กลุ่มควบคุม (n=52)	9 (17.3)	9 (17.3)	2 (3.8)	32 (61.5)	0.220
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	5 (9.8)	5 (9.8)	6 (11.8)	35 (68.6)	
T_6	กลุ่มควบคุม (n=52)	6 (11.5)	10 (19.2)	12 (23.1)	24 (46.2)	0.671
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	4 (7.8)	12 (23.5)	8 (15.7)	27 (52.9)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.040)

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่ช่วงเวลา 3 เดือน (T_3) เปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น และแบ่งตามกลุ่มศึกษา

การเปลี่ยนแปลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่ช่วงเวลา 3 เดือน (T3) เปรียบเทียบกับเวลาเริ่มต้น	กลุ่มศึกษา		*p*-value
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=51)	กลุ่มควบคุม (n=52)	
เพิ่มขึ้น	6 (11.8)	8 (15.4)	0.001*
คงที่ในระดับสูง	7 (13.7)	18 (34.6)	
คงที่ในระดับต่ำ	12 (23.5)	23 (44.2)	
ลดลง	26 (51.0)	3 (5.8)	

สถิติการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

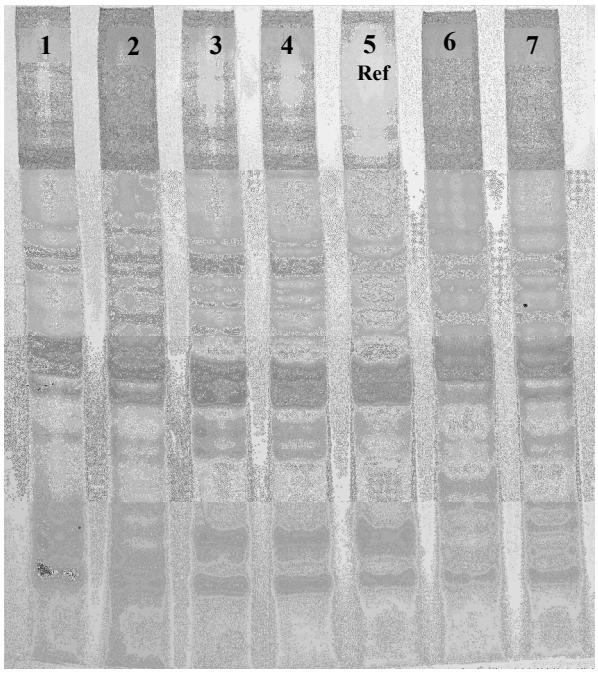
หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.001)

ข้อมูลการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน

การคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันของการศึกษานี้ ตรวจสอบด้วยวิธี arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) ซึ่งสามารถค้นหาลักษณะเฉพาะของ DNA fingerprint pattern จาก genomic DNA ของเชื้อที่ได้มาจากช่องปากของ

กลุ่มศึกษาภายหลังการได้รับนมทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกที่ช่วงเวลา T_3, T_4 และ T_6 ตามลำดับ

ผลการศึกษาความคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันด้วยวิธี AP-PCR พบว่าร้อยละการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในเด็กที่อยู่ในกลุ่มโพรไบโอติกมีเพียง 1.96% (1 คน) ที่ช่วงเวลา T_3



รูปที่ 5 แสดงรูปแบบ DNA fingerprint จากการทำ AP-PCR โดยใช้ primer ERIC1R, ERIC2 ของเชื้อแลคโตบาซิลไลที่แยกได้จากเด็ก 1 คนที่ได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน โดยพบว่ามี 2 โคโลนีแสดงดังช่องที่ 3 และ 4 ซึ่งมีลักษณะรูปแบบ DNA คล้ายกับรูปแบบ DNA ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน ในช่องที่ 5

ข้อมูลการตรวจฟันของกลุ่มศึกษา

การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของการเกิดรอยโรคฟันผุที่เวลาเริ่มต้นกับที่เวลา 6 เดือน

จากการตรวจฟันของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นพบว่าจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในกลุ่มศึกษาส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยของจำนวนซี่ฟันผุสูง คือมีฟันผุเกือบครึ่งหนึ่งของฟันที่มีอยู่ในช่องปากเฉลี่ย 9.72±5.99 ซี่/คน

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนซี่และด้านฟันผุในเวลา T_0 และ T_6 ของกลุ่มศึกษาทั้งสองกลุ่มพบว่าในกลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนซี่ที่เพิ่มขึ้น (Δdt) น้อยกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในกลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δds) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 12 และ 13

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่ฟันผุของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย

ตัวแปร	กลุ่มโพรไบโอติก (n = 51)	กลุ่มควบคุม (n = 52)	*p*-value
จำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (dt_0)	10.61 ± 5.81	8.85 ± 6.09	0.132
จำนวนซี่ฟันผุที่เวลา T_6 (dt_6)	11.37 ± 5.60	10.10 ± 5.55	0.220
จำนวนซี่ฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δdt)	0.76 ± 1.29	1.25 ± 1.64	0.029*

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p*-value = 0.029)

ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านฟันผุของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย

Dental caries	กลุ่ม		*p*-value
	กลุ่มโพรไบโอติก (n = 51)	กลุ่มควบคุม (n = 52)	
จำนวนผิวด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (ds at T_0)	27.08 ± 19.85	19.98 ± 17.75	0.066
จำนวนผิวด้านฟันผุที่เวลา T_6 (ds at T_6)	29.51 ± 20.58	22.79 ± 17.68	0.105
จำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δds)	2.41 ± 2.56	2.81 ± 3.84	0.701

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของการเกิดรอยโรคฟันผุ โดยแบ่งกลุ่มศึกษาตามจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น

การศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อการเกิดฟันผุ โดยเปรียบเทียบผลการตรวจฟันผุที่เวลาเริ่มต้นกับที่เวลา 6 เดือนของเด็กแต่ละคน ซึ่งมี

จำนวนเด็กที่มีการลุกลามและไม่มีการลุกลามของฟันผุ โดยแบ่งกลุ่มศึกษาออกเป็น 3 กลุ่มตามระดับซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น คือกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุต่ำ คือมีจำนวนฟันผุ 0-2 ซี่ กลุ่มที่มีจำนวนฟันผุปานกลาง คือมีจำนวนฟันผุ 3-5 ซี่ และกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุสูง คือมีจำนวนฟันผุมากกว่าหรือเท่ากับ 6 ซี่ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าในกลุ่มโพรไบโอติกจะมีจำนวนเด็กที่มีการลุกลามของฟันผุน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมในทุกๆระดับของจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น ผลการเปลี่ยนแปลงของการเกิดรอยโรคฟันผุระหว่างที่เวลาเริ่มต้นกับที่เวลาสิ้นสุดการวิจัยในกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่มพบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมีผลในการป้องกันการลุกลามของฟันผุในกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนฟันผุต่ำมากที่สุด (OR=5.25) อย่างไรก็ตามพบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมีผลในการป้องกันการลุกลามของฟันผุในกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนฟันผุปานกลางและสูงเช่นกัน (OR=3.60, OR=2.70 ตามลำดับ) รายละเอียดในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟันผุของกลุ่มศึกษา แบ่งตามระดับจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น

การเปลี่ยนแปลงของฟันผุ	จำนวน (ร้อยละ) ของเด็กแบ่งตามระดับจำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น					
	0-2 ซี่ (n=15)		3-5 ซี่ (n=17)		≥6 ซี่ (n=71)	
	กลุ่มโพรไบโอติก	กลุ่มควบคุม	กลุ่มโพรไบโอติก	กลุ่มควบคุม	กลุ่มโพรไบโอติก	กลุ่มควบคุม
มีการลุกลาม	4 (57.1)	7 (87.5)	5 (71.4)	9 (90)	10 (27)	17 (50)
ไม่มีการลุกลาม	3 (42.9)	1 (12.5)	2 (28.6)	1 (10)	27 (73)	17 (50)
รวม	7 (100)	8 (100)	7 (100)	10 (100)	37 (100)	34 (100)
Odd Ratio (OR)	5.25		3.60		2.70	
p-value	0.282		0.537		0.055	

สถิติการทดสอบฟิชเชอร์ (Fisher's Exact test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่และด้านฟันผุของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย แบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น

การศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อจำนวนซี่และด้านฟันผุ โดยเปรียบเทียบผลการตรวจที่เวลาเริ่มต้นกับที่เวลาสิ้นสุดการวิจัย โดยแบ่งกลุ่มศึกษาออกเป็น 3 กลุ่มตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น ได้แก่กลุ่มที่มีจำนวนฟันผุต่ำ คือมีจำนวนฟันผุ

0-2 ซี่ กลุ่มที่มีจำนวนฟันผุปานกลาง คือมีจำนวนฟันผุ 3-5 ซี่ และกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุสูง คือมีจำนวนฟันผุมากกว่าหรือเท่ากับ 6 ซี่ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น (dtT_0) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกในกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนฟันผุต่ำและสูงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) จำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (dsT_0) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกในทุกกลุ่มศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) เช่นเดียวกัน

จำนวนซี่ฟันผุเพิ่มขึ้น (Δdt) และจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δds) ในกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนฟันผุต่ำและจำนวนฟันผุปานกลางของกลุ่มโพรไบโอติกมีค่าน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดในตารางที่ 15

ข้อมูลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของฟันผุที่หลุมร่องฟันผุและฟันผุที่ด้านเรียบที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัยของกลุ่มศึกษาโดยแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น

การศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อจำนวนฟันผุที่หลุมร่องฟันและฟันผุที่ด้านเรียบโดยเปรียบเทียบผลการตรวจที่เวลาเริ่มต้นกับที่เวลาสิ้นสุดการวิจัยของเด็กแต่ละคน โดยแบ่งกลุ่มศึกษาออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุต่ำ คือมีจำนวนฟันผุ 0-2 ซี่ กลุ่มที่มีจำนวนฟันผุปานกลาง คือมีจำนวนฟันผุ 3-5 ซี่ และกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุสูง คือมีจำนวนฟันผุมากกว่าหรือเท่ากับ 6 ซี่ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าฟันผุที่หลุมร่องฟันที่เวลาเริ่มต้น (O-cariesT$_0$) ฟันผุที่ด้านเรียบที่เวลาเริ่มต้น (smooth surf cariesT$_0$) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกในกลุ่มที่มีจำนวนฟันผุเริ่มต้นต่ำ ปานกลางและสูงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

พบว่าเด็กที่มีฟันผุเริ่มต้นต่ำ ที่ได้รับโพรไบโอติก จะมีจำนวนฟันผุที่เพิ่มขึ้นที่หลุมร่องฟันที่เวลา T_6 (ΔO-caries) น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดในตารางที่ 16

พบว่าเด็กที่มีฟันผุเริ่มต้นต่ำและฟันผุปานกลาง ที่ได้รับโพรไบโอติก จะมีจำนวนฟันผุเพิ่มขึ้นที่ผิวฟันด้านเรียบที่เวลา T_6 (Δsmooth surf caries) น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) รายละเอียดในตารางที่ 17

ตารางที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่และด้านฟันผุของกลุ่มศึกษาที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัย

Dental caries	ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนซี่และด้านฟันผุแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น								
	0-2 ซี่ (n=15)		*p*-value	3-5 ซี่ (n=17)		*p*-value	≥6 ซี่ (n=71)		*p*-value
	กลุ่มโพไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=8)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=10)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=37)	กลุ่มควบคุม (n=34)	
จำนวนซี่ฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (dt_0)	1.00±1.00	0.38±0.74	0.186	4.57±0.54	3.60±0.70	0.013*	13.57±3.55	12.38±4.30	0.221
จำนวนซี่ฟันผุที่เวลา T_6 (dt_6)	1.71±1.50	2.38±2.13	0.638	5.86±1.22	6.50±2.42	0.842	14.24±3.24	12.97±4.27	0.216
จำนวนซี่ฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δdt)	0.71±0.76	2.00±2.20	0.205	1.29±1.11	2.90±2.18	0.122	0.68±1.40	0.59±0.66	0.172
จำนวนด้านฟันผุที่เวลาเริ่มต้น (ds at T_0)	1.29±1.50	0.38±0.74	0.168	7.29±3.30	5.80±2.78	0.300	35.70±16.22	28.76±15.84	0.070
จำนวนด้านฟันผุที่เวลา T_6 (dsT_6)	2.00±1.73	3.25±4.23	0.769	9.57±3.65	10.90±4.01	0.555	38.49±16.69	30.88±16.49	0.055
จำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δds)	0.57±0.54	2.88±4.36	0.099	2.29±2.36	5.10±4.89	0.237	2.78±2.70	2.12±3.19	0.403

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านที่มีฟันผุที่ด้านหลุมร่องฟันที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัยของกลุ่มศึกษาโดยแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น

ระยะเวลา	ค่าเฉลี่ยรอยผุ(ด้าน)แบ่งตามระดับปริมาณฟันผุเริ่มต้น								
	0-2 ซี่ (n=15)		*p*-value	3-5 ซี่ (n=17)		*p*-value	>6 ซี่ (n=71)		*p*-value
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=8)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=10)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=37)	กลุ่มควบคุม (n=34)	
ฟันผุที่หลุมร่องฟันผุที่เวลาเริ่มต้น ($O\text{-}caries T_0$)	0.00±0.00	0.12±0.35	0.350	0.71±1.50	0.70±1.16	0.952	5.22±2.57	4.26±2.84	0.149
ฟันผุที่หลุมร่องฟันผุที่สิ้นสุดการวิจัย ($O\text{-}caries T_6$)	0.14±0.38	0.75±0.71	0.061	1.14±1.68	1.00±1.05	0.835	5.59±2.51	4.50±2.62	0.074
ฟันผุที่หลุมร่องฟันเพิ่มขึ้น ($\Delta O\text{-}caries$)	0.14±0.38	0.62±0.52	0.066	0.43±1.13	0.30±0.48	0.598	0.38±0.86	0.23±0.82	0.647

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนด้านที่มีฟันผุที่ด้านเรียบที่เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการวิจัยของกลุ่มศึกษาโดยแบ่งตามจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้น

ระยะเวลา	ค่าเฉลี่ยรอยผุ(ด้าน)แบ่งตามระดับปริมาณฟันผุเริ่มต้น								
	0-2 ซี่ (n=15)		*p*-value	3-6 ซี่ (n=17)		*p*-value	>6 ซี่ (n=71)		*p*-value
	กลุ่มโพรไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=8)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=7)	กลุ่มควบคุม (n=10)		กลุ่มโพรไบโอติก (n=37)	กลุ่มควบคุม (n=34)	
ฟันผุที่ด้านเรียบที่เวลาเริ่มต้น (smooth surf cariesT_0)	1.29±1.50	0.25±0.46	0.115	6.57±3.46	5.10±2.69	0.164	30.49±14.53	24.50±13.90	0.071
ฟันผุที่ด้านเรียบที่สิ้นสุดการวิจัย (smooth surf cariesT_6)	1.86±1.77	2.50±4.57	0.629	8.43±3.21	9.90±4.31	0.523	32.89±14.90	26.38±14.85	0.060
ฟันผุที่ด้านเรียบเพิ่มขึ้น (Δsmooth surf caries)	0.43±0.54	2.25±4.68	0.782	1.86±2.27	4.80±4.85	0.296	2.41±2.32	1.88±3.01	0.382

สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ประกอบด้วยกลุ่มเด็กเล็กจำนวน 103 คน จากศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในเขตอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จำนวน 5 แห่ง โดยเด็กในกลุ่มนี้มีค่าเฉลี่ยซี่และด้านฟันผุเท่ากับ 9.72 ± 5.99 ซี่ หรือ 23.50±19.06 ด้าน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยจำนวนซี่ฟันทั้งหมดที่มีในช่องปากซึ่งมีจำนวนฟันอยู่ 19.26±0.48 ซี่ จะพบว่าเด็กในกลุ่มศึกษาซึ่งมีอายุเฉลี่ย 41.06±9.19 เดือน โดยเด็กร้อยละ 50 มีอายุในช่วง 43 - 60 เดือน หรือ 3.5 - 5 ปี มีจำนวนฟันผุอยู่ในระดับสูงถึงครึ่งหนึ่งของจำนวนฟันที่ขึ้นทั้งหมดตั้งแต่ก่อนเริ่มการศึกษา นอกจากนี้พบว่ากลุ่มศึกษาร้อยละ 33.01 (34 คน) มีปริมาณของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคที่เวลาเริ่มต้นสูงมากกว่า 100 CFU/1.5cm^2 ซึ่งคือมากกว่า 10^6 CFU/ml เกณฑ์ดังกล่าวนี้ถือว่ากลุ่มศึกษามีความเสี่ยงต่อโรคฟันผุสูงมาก [44]

กลุ่มศึกษานี้ใช้เกณฑ์การตรวจฟันที่ปรับปรุงจากดัชนี Nyvad และคณะ 2011 เป็นเกณฑ์การตรวจฟันที่มีการนับฟันผุในทุกระดับทั้งที่ผุเฉพาะผิวเคลือบฟันและถึงเนื้อฟัน ทั้งที่เป็นฟันผุแบบลุกลามและไม่ลุกลาม จึงทำให้พบว่าจำนวนฟันผุเริ่มต้นของกลุ่มศึกษานี้มีค่าค่อนข้างสูง โดยกลุ่มศึกษานี้มีค่าเฉลี่ยฟันผุที่เวลาเริ่มต้นเท่ากับ 9.72±5.99 ซี่ โดยเป็นฟันผุเฉพาะผิวเคลือบฟัน (enamel caries) เท่ากับ 3.38±2.86 ซี่ และฟันผุลึกถึงชั้นเนื้อฟัน (cavitated caries) เท่ากับ 6.34±5.39 ซี่ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 7 [1] ซึ่งรายงานผล dmft 4.4 ซี่ ในเด็กอายุ 5 ปี จะพบว่าเด็กของกลุ่มศึกษานี้มีจำนวนฟันผุสูงกว่าค่าเฉลี่ยจำนวนฟันผุของเด็กทั้งประเทศในช่วงอายุเดียวกัน

การคำนวณกลุ่มตัวอย่างของการศึกษานี้ คำนวณจากวัตถุประสงค์หลักที่วัดผลของเชื้อแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อการเกิดฟันผุ อย่างไรก็ตามได้คิดคำนวณเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มากขึ้นกว่าที่คำนวณได้อีก 30 % เพื่อสำรองการขาดหายไปของกลุ่มศึกษาในระหว่างการวิจัย ผลการศึกษาที่พบทั้งในส่วนที่เกี่ยวข้องกับระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและฟันผุพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าขนาดของกลุ่มศึกษามีขนาดเพียงพอสำหรับทั้งวัตถุประสงค์หลักและวัตถุประสงค์รอง

จากการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะประชากรพื้นฐานของกลุ่มศึกษาคือเพศ อายุเฉลี่ย ระดับปริมาณเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและเชื้อแลคโตบาซิลไลในน้ำลายที่เวลาเริ่มต้น รวมทั้งจำนวนซี่ฟันผุเริ่มต้นพบว่าข้อมูลพื้นฐานของทั้งกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมไม่มี

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการแบ่งกลุ่มด้วยการสุ่ม (Allocation) เป็นที่ยอมรับได้ สามารถลดปัญหาตัวแปรกวนที่อาจส่งผลต่อการศึกษาวิจัยได้

หลังจากที่กลุ่มศึกษาได้รับนมเป็นระยะเวลา 3 เดือนแล้ว ระยะเวลาในการติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของฟันผุที่เวลา 6 เดือนอาจดูว่าเป็นเวลาที่น้อยในการติดตามผลการลุกลามของฟันผุเมื่อเปรียบเทียบกับการติดตามฟันผุในฟันแท้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้มีกลุ่มศึกษาเป็นเด็กเล็กซึ่งดูผลการเปลี่ยนแปลงของฟันผุในชุดฟันน้ำนม รวมทั้งกลุ่มศึกษานี้เป็นกลุ่มที่มีอัตราการเกิดฟันผุสูง [45] เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนซี่และด้านฟันผุในกลุ่มควบคุมที่เวลาเริ่มต้นเท่ากับ 9.72±5.99 ซี่ หรือ 23.50±19.06 ด้าน แต่เมื่อสิ้นสุดการวิจัยพบว่าค่าค่าเฉลี่ยจำนวนซี่และด้านฟันผุในกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้นเป็น 10.73±5.59 ซี่ หรือ 26.12±19.37 ด้าน ตามลำดับ ดังนั้นระยะเวลาเพียง 6 เดือนตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการวิจัยจึงเพียงพอที่จะติดตามการเปลี่ยนแปลงของฟันผุได้ จากที่ผ่านมาได้มีการศึกษาถึงผลของการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในอาสาสมัครประกอบด้วยการศึกษาในกลุ่มผู้ใหญ่และเด็กโต และเป็นแนวทางนำมาสู่การศึกษานี้ที่ศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในเด็กเล็ก โดยการศึกษาแรก ๆ ซึ่งทำการศึกษาระยะสั้นในกลุ่มผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรงมีค่าเฉลี่ยอายุ 21±1.45 ปี มีฟันผุไม่เกิน 2 ซี่ และกลุ่มผู้ป่วยปากแหว่งเพดานโหว่มีค่าเฉลี่ยอายุ 19.22±3.66 ปี ไม่มีฟันผุในระยะลุกลาม ซึ่งได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากทานนมไปแล้ว 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ [16,17] และจากการศึกษาระยะยาวซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมในกลุ่มศึกษาที่เป็นนักเรียนมัธยมศึกษาตอนต้นมีอายุอยู่ในช่วง 13-14 ปี มีจำนวนฟันผุไม่เกิน 3 ซี่ ได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน ผลการศึกษาพบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากทานนมไปแล้ว 3, 6 และ 9 เดือน [18] จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันสามารถลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้ทั้งในกลุ่มผู้ใหญ่และเด็กโต [16–18] กลไกหนึ่งที่ทำให้เกิดการลดลงของเชื้อมิวแทน สเตรปโตคอคไค อาจเกิดจากที่โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันสามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ออกมา ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลชีพได้ โดยเฉพาะต่อเชื้อก่อโรคฟันผุ [46]

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ในเด็กเล็กซึ่งได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก

แลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน พบการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะที่เวลา 3 เดือนเท่านั้น ที่เวลา 4 และ 6 เดือน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคสูงขึ้นอีกครั้งที่เวลา 4 และ 6 เดือน ในการศึกษานี้พบว่าการได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในเด็กเล็กสามารถลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้ดีในช่วงระยะเวลาสั้นๆหลังจากหยุดนมโพรไบโอติกแล้ว อาจเนื่องจากกลุ่มศึกษานี้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มที่มีฟันผุและเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคเริ่มต้นที่ระดับสูงซึ่งอาจมีผลทำให้เชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคกลับมาเพิ่มขึ้นอีกได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ในเด็กเล็กยังมีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุรวมทั้งการลุกลามของฟันผุได้รวดเร็วกว่าผู้ใหญ่

การเปรียบเทียบร้อยละและจำนวนเด็กที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค ที่ช่วงเวลา 3 เดือน (T3) เปรียบเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนเด็กที่มีการลดลง และมีการคงที่ของเชื้อ มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) จึงสามารถสรุปได้ว่า การได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 3 เดือน มีผลทำให้เกิดการลดเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้

จากการศึกษาระยะสั้นในกลุ่มศึกษาที่เป็นกลุ่มวัยรุ่นที่มีสุขภาพแข็งแรงมีอายุอยู่ในช่วง 21-24 ปี ไม่มีฟันผุในระยะลุกลาม ซึ่งได้รับนมโพรไบโอติก *Lactobacillus reuteri* วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่ามีการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระยะเวลา 3 สัปดาห์หลังจากหยุดนมโพรไบโอติกทันที [47] อย่างไรก็ตามกลุ่มศึกษาวัยรุ่นอายุอยู่ในช่วง 18-35 ปี มี DMF index อยู่ในช่วงร้อยละ 5-5.5 ของจำนวนฟันทั้งหมด ซึ่งได้รับชีสที่มีส่วนผสมของ LGG และ *Lactobacillus rhamnosus* LC705 วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่ามีแนวโน้มในการลดลงของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [48] และจากการศึกษาระยะยาวซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม ในกลุ่มศึกษาที่เป็นเด็กเล็กมีอายุอยู่ในช่วง 1-5 ปี ซึ่งเป็นกลุ่มที่มี dmfs อยู่ในช่วง 0.5-0.6 ด้านต่อคน และได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* LB21 และฟลูออไรด์ วันละ1 ครั้ง เป็นเวลา 21 เดือน ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* LB21 และฟลูออไรด์ พบแนวโน้มการลดลงของจำนวนเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [49]

การศึกษาถึงผลของฟันผุหลังจากการได้รับโพรไบโอติกมีอยู่ค่อนข้างน้อย จากการศึกษาระยะยาวซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมในกลุ่มศึกษาที่เป็นเด็ก

เล็ก มีอายุอยู่ในช่วง 1-6 ปี เด็กส่วนใหญ่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคฟันผุต่ำ ได้รับนมโพรไบโอติก LGG สัปดาห์ละ 5 วัน เป็นระยะเวลา 7 เดือน ผลการศึกษาพบว่านมโพรไบโอติก LGG สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [31] สอดคล้องกับการศึกษาในเด็กเล็กที่มีอายุในช่วง 1-5 ปี ซึ่งเป็นกลุ่มที่มี dmfs อยู่ในช่วง 0.5-0.6 ด้านต่อคน และได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* LB21 และฟลูออไรด์วันละ1 ครั้ง เป็นเวลา 21 เดือน ผลการศึกษาจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกและฟลูออไรด์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกและฟลูออไรด์มีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [49] และจากการศึกษานี้ผลการศึกษาจำนวนซี่ฟันผุที่เพิ่มขึ้นที่เวลาสิ้นสุดการวิจัยระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมพบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนซี่ฟันผุที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าที่พบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการลุกลามของฟันผุแบ่งตามระดับจำนวนซี่ฟันผุที่เริ่มต้นพบว่าในกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนซี่ฟันผุต่ำ 0-2 ซี่ ให้ผลในการลดการลุกลามการเกิดฟันผุในกลุ่มโพรไบโอติกได้ 5.25 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งได้ผลดีกว่ากลุ่มศึกษาที่มีจำนวนซี่ฟันผุปานกลาง 3-5 ซี่และกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนซี่ฟันผุสูง $\geq$6 ซี่ ให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซีอายเอสดีวันที่ศึกษาในกลุ่มเด็กมัธยมศึกษาตอนต้น ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มศึกษาที่มีจำนวนซี่ฟันผุต่ำ 0-3 ซี่ ให้ผลลดการลุกลามของการเกิดฟันผุได้ 4.55 เท่า [18] อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีกลุ่มศึกษาที่มีจำนวนซี่ฟันผุต่ำ 0-2 ซี่ อยู่จำนวนน้อยเพียงร้อยละ 16.50 จึงอาจส่งผลให้ไม่พบความแตกต่างในทางสถิติ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาพบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซีอายเอสดีวันมีแนวโน้มในการลดการลุกลามของฟันผุและฟันผุเกิดใหม่ได้ดีในกลุ่มที่มีจำนวนซี่ฟันผุต่ำ

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นระหว่างกลุ่มโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมพบว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่มีจำนวนซี่ฟันผุต่ำ 0-2 ซี่ และปานกลาง 3-5 ซี่มีจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้น (Δ_{ds}) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) แต่ในกลุ่มที่มีจำนวนซี่ฟันผุสูง $\geq$ 6 ซี่พบว่าจำนวนด้านฟันผุที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มควบคุมน้อยกว่ากลุ่มโพรไบโอติกอาจเนื่องจากจำนวนด้านของฟันผุที่เริ่มต้นมีสูงมากแล้ว ดังนั้นจำนวนด้านของฟันผุที่สิ้นสุดการวิจัยจึงไม่สามารถเพิ่มขึ้นไปได้มากกว่าที่มีอยู่ในเวลาที่เริ่มต้นมากนัก

กลไกการทำงานของโพรไบโอติกต่อการป้องกันฟันผุยังไม่มีหลักฐานที่ชัดเจนนัก อย่างไรก็ตามกลไกของโพรไบโอติกต่อการป้องกันกันผุที่อาจเกิดขึ้นได้คือการแข่งขันเพื่อครอบครองพื้นที่และสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อก่อโรคฟันผุโดยตรง [46,47] จึง

จำเป็นต้องมีการคงอยู่ของโพรไบโอติกในช่องปาก

การศึกษาความคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน โดยการใช้เทคนิคการตรวจสอบ AP-PCR เพื่อให้ได้ลักษณะของ DNA fingerprint pattern ใน 1% polyacrylamide gel พบลักษณะของ DNA fingerprint pattern ที่มีรูปแบบคล้ายกับ DNA fingerprint pattern ของเชื้อโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน 2 แถบซึ่งเป็นของเด็ก 1 คนที่อยู่ในกลุ่มโพรไบโอติกโดยเป็นน้ำลายที่ถูกเก็บที่เวลา 3 เดือน ข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับข้อมูลการตรวจเชื้อแลคโตบาซิลไลที่เวลาเริ่มต้น 3, 4 และ 6 เดือน ซึ่งพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อแลคโตบาซิลไลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 3 เดือน จากนั้นเชื้อแลคโตบาซิลไลมีการลดลงที่เวลา 4 และ 6 เดือนตามลำดับ โดยปัจจัยหนึ่งที่อาจส่งผลให้พบการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันเพียงแค่ที่เวลา 3 เดือนอาจเนื่องจากเทคนิคการเก็บน้ำลายที่ใช้ในเด็กเล็กซึ่งจำเป็นต้องเก็บน้ำลายด้วยวิธี modified spatula method [44] โดยเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่สามารถเก็บเชื้อได้เพียงบางส่วนของเชื้อทั้งหมดในช่องปากเท่านั้นจึงไม่สามารถใช้เป็นตัวแทนของชนิดและจำนวนเชื้อทั้งหมดในช่องปากได้ต่างกับการศึกษาที่ผ่านมา [16–18] ซึ่งใช้เทคนิคการเก็บน้ำลายด้วยวิธี oral rinse method [50] ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่สามารถใช้เป็นตัวแทนบอกชนิดและจำนวนทั้งหมดของเชื้อในช่องปากได้ แต่อย่างไรก็ตามในเด็กเล็กมักมีข้อจำกัดที่ทำให้ต้องเลือกใช้วิธีนี้เนื่องจากความร่วมมือ

การศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันได้ผลที่แตกต่างจากการศึกษานี้ โดยจากการศึกษาในกลุ่มผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรงพบการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันถึงร้อยละ 75 ของกลุ่มโพรไบโอติกเมื่อติดตามที่เวลา 4 สัปดาห์หลังจากหยุดนมโพรไบโอติก [16] และจากการศึกษาในกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นพบการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันเมื่อติดตามที่เวลา 3 เดือนหลังจากหยุดนมโพรไบโอติก [18]

ความคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติกสายพันธ์อื่นๆซึ่งเป็นเชื้อที่ได้มาจากช่องท้องซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์ในช่องปาก ส่วนใหญ่ถูกรายงานว่าโพรไบโอติกสามารถเจริญเติบโตและอยู่รอดในช่องปากได้ แต่มักจะเกาะติดอยู่ภายในช่องปากได้เพียงชั่วคราวเท่านั้น [36,51]

ก่อนเริ่มการศึกษานี้ผู้วิจัยเคยคาดว่าการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันจะสามารถคงอยู่ในช่องปากของเด็กเล็กได้นานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับในผู้ใหญ่ เนื่องจากคาดว่าผู้ใหญ่น่าจะมีประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันในการต่อต้านเชื้อแปลกปลอมที่ดีกว่าในเด็กเล็ก อย่างไรก็ตามการศึกษานี้กลับพบว่าผลการคงอยู่ของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในเด็กเล็กไม่ได้อยู่นานกว่าในผู้ใหญ่ตามที่คาดไว้

เนื่องจากส่วนหนึ่งอาจเป็นเพราะเด็กเล็กส่วนใหญ่ในกลุ่มศึกษานี้มีจำนวนซี่ฟันผุและเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคสูงตั้งแต่ที่เวลาเริ่มต้นจึงอาจส่งผลให้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันไม่สามารถเกาะตัวในช่องปากแทนที่เชื้อต่างๆที่มีเป็นจำนวนมากในช่องปากตั้งแต่เริ่มต้นของเด็กได้ ผลของการศึกษานี้จึงยังไม่สามารถตอบคำถามในกลุ่มนี้ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นผู้วิจัยคาดว่าการศึกษาที่น่าสนใจในอนาคตเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถตอบคำถามได้ชัดเจนขึ้นคือการศึกษาในกลุ่มเด็กเล็กที่มีอายุน้อยลงและยังมีปริมาณฟันผุไม่มากนักจึงเป็นสิ่งจำเป็น

ความร่วมมือของกลุ่มศึกษาทั้ง 2 กลุ่มในการดื่มนมถือว่าเป็นที่น่าพอใจ กลุ่มศึกษาทุกคนได้รับนมอย่างน้อยประมาณ 80 % ของนมทั้งหมดที่ผู้วิจัยกำหนดให้ทานเป็นระยะเวลา 3 เดือน ลักษณะของนมผงทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกัน ลักษณะสี กลิ่น และรสชาติของนมทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน กลุ่มศึกษาทุกคนสามารถยอมรับกับ สี กลิ่น และรสชาติของนมได้โดยไม่มีเด็กคนใดปฏิเสธการดื่มนม

จากการศึกษานี้ไม่พบผลข้างเคียงและภาวะแทรกซ้อนจากการใช้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันตลอดระยะเวลาดำเนินการศึกษา โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันจึงถือว่าน่าจะมีความปลอดภัยสำหรับการใช้ในกลุ่มเด็กเล็กก่อนวัยเรียนเช่นเดียวกับกลุ่มอื่นๆจากการศึกษาก่อนหน้านี้ [16–18]

Bacteriotherapy เป็นรูปแบบของการใช้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกมาช่วยยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบต่างๆของร่างกาย การใช้โพรไบโอติกเพื่อการป้องกันและรักษาโรคในช่องปากเริ่มได้รับความสนใจมากขึ้น มีการศึกษาทางคลินิกทั้งที่เป็นการศึกษาระยะสั้นและระยะยาว ซึ่งผลของการศึกษาพบว่าการได้รับโพรไบโอติกสามารถลดระดับเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคทั้งในน้ำลายและคราบจุลินทรีย์ได้ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่ผ่านมาให้ผลที่ต่างกันออกไป ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ การออกแบบการวิจัยรวมทั้งกลุ่มประชากรที่ต่างกันด้วย [31,47,52–56]

การศึกษาการนำโพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆมาใช้ในทารกและเด็กเล็ก ซึ่งมีทั้งรายงานที่นำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาโรคทางระบบทางเดินอาหารและใช้ประโยชน์ในช่องปาก จากรายงานไม่พบผลข้างเคียงจากการใช้โพรไบโอติกในทารกและเด็กเล็ก [57–60]

การศึกษาที่ผ่านมาในกลุ่มเด็กเล็กเกี่ยวกับผลของโพรไบโอติกต่อสุขภาพร่างกาย พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับนมโพรไบโอติกและฟลูออไรด์และกลุ่มควบคุมพบว่ากลุ่มที่ได้รับนมโพรไบโอติกและฟลูออไรด์ให้ผลในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงระหว่างการได้รับนมโพรไบโอติกและฟลูออไรด์ถึงร้อยละ 60 นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มที่ได้รับนมโพรไบโอติกและฟลูออไรด์มีแนวโน้มในการเกิด otitis

media และไข้หวัดที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [49] เช่นเดียวกับการศึกษาในกลุ่มเด็กเล็กเพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อสุขภาพร่างกายเช่นกัน โดยผลการศึกษาพบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกและกลุ่มควบคุมในการลดการติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร [31] จากการศึกษานี้ยังไม่ได้ศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อสุขภาพร่างกาย ดังนั้นประเด็นการศึกษาที่น่าสนใจในอนาคตอาจจำเป็นต้องศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อสุขภาพร่างกายด้วย

ปัญหาหนึ่งที่ผู้วิจัยพบ คือในกลุ่มศึกษาเด็กเล็กอายุ 1-3 ปี ไม่ได้รับความยินยอมให้เข้าร่วมการวิจัยมากกว่าร้อยละ 50 จึงทำให้กลุ่มศึกษาของการศึกษานี้มีเด็กในช่วงอายุ 1-3 ปีอยู่เพียงร้อยละ 13.59 (14 คน) เท่านั้น

การศึกษานี้ใช้รูปแบบการให้โพรไบโอติกในเด็กเล็กในรูปแบบของนมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันเนื่องด้วยการดื่มนมเป็นกิจวัตรประจำวันของเด็กเล็ก ผู้วิจัยจึงคาดว่าการนำโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันมาผสมในนมผงจะสามารถนำมาปรับใช้ในเด็กเล็กได้ไม่ยากนัก อย่างไรก็ตามโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันสามารถให้ผลในการลดเชื้อก่อโรคฟันผุและลดการลุกลามของฟันผุได้ก็ต่อเมื่อต้องได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันอย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอด้วย

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

บทสรุป

1. การได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันอย่างต่อเนื่องมีประสิทธิภาพในการลดระดับปริมาณของเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคได้ในกลุ่มเด็กอายุ 1-5 ปี

2. การได้รับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันอย่างต่อเนื่องมีประสิทธิภาพในการลดการลุกลามและการเกิดใหม่ของรอยโรคฟันผุได้ในกลุ่มเด็กเล็กที่มีฟันผุน้อยมากกว่าเด็กเล็กที่มีฟันผุมาก

3. ไม่พบผลข้างเคียงจากการได้รับนมผงที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันตลอดการวิจัย

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นที่น่าสนใจต่อไปว่าการศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวัน ดังต่อไปนี้

1. การศึกษาโดยกำหนดให้กลุ่มศึกษาที่มีอายุต่ำลงมากขึ้นเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันในการป้องกันฟันผุในกลุ่มเด็กเล็กที่ยังมีจำนวนฟันผุในช่องปากในระดับต่ำ

2. กลไกการทำงานของโพรไบติกในการลดเชื้อก่อโรคฟันผุและการป้องกันการเกิดฟันผุ

3. การศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดีวันต่อสุขภาพร่างกาย

บรรณานุกรม

1. สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย; 2556. รายงานผลการสำรวจ สภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 7 ประเทศไทย พ.ศ. 2555.
2. Rajab LD, Hamdan MAM. Early childhood caries and risk factors in Jordan. ***Community Dent Health*** 2002; 19(4): 224–9.
3. Rosenblatt A, Zarzar P. The prevalence of early childhood caries in 12- to 36-month-old children in Recife, Brazil. ***ASDC J Dent Child*** 2002; 69(3): 319–24, 236.
4. Peretz B, Ram D, Azo E, Efrat Y. Preschool caries as an indicator of future caries: a longitudinal study. ***Pediatr Dent*** 2003; 25(2): 114–8.
5. Food and Health Agricultral Organization of the United Nations and World Health Organization. Guideline for the evaluation of probiotic in food. 2002.
6. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. ***Int J Paediatr Dent Br Paedodontic Soc Int Assoc Dent Child*** 2008; 18(1): 3–10.
7. Schultz M, Sartor RB. Probiotics and inflammatory bowel diseases. ***Am J Gastroenterol*** 2000; 95: S19–21.
8. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, Cabrera L, et al. A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. ***J Pediatr*** 1999; 134(1): 15–20.
9. Isolauri E, Rautanen T, Juntunen M, Sillanaukee P, Koivula T. A Human Lactobacillus Strain (Lactobacillus Casei sp strain GG) Promotes Recovery From Acute Diarrhea in Children. ***Pediatrics*** 1991; 88(1): 90–7.
10. Singh M, Ranjan Das R. Probiotics for allergic respiratory diseases – Putting it into perspective. ***Pediatr Allergy Immunol*** 2010; 21(2p2): e368–76.
11. Singh VP, Sharma J, Babu S, Rizwanulla null, Singla A. Role of probiotics in health and disease: a review. ***JPMA J Pak Med Assoc*** 2013; 63(2): 253–7.
12. Strus M, Kucharska A, Kukla G, Brzychczy-Włoch M, Maresz K, Heczko PB. The in vitro activity of vaginal Lactobacillus with probiotic properties against Candida. ***Infect Dis Obstet Gynecol*** 2005; 13(2): 69–75.

13. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. ***Am J Dent*** 2009; 22(6): 329–38.

14. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. ***Oral Dis*** 2007; 13(5): 443–51.

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

16. 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.

17. 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-Craniofacial J Off Publ Am Cleft Palate-Craniofacial Assoc*** 2013.

18. 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.

19. Proceedings of the Symposium on the Prevention of Oral Disease in Children and Adolescents, ***Pediatr Dent*** 2006; 28(2): 95–192.

20. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. ***Community Dent Oral Epidemiol*** 1998; 26(1 Suppl): 8–27.

21. Van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. ***Int Dent J*** 1980; 30(4): 305–26.

22. Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. ***Microbiol Rev*** 1986; 50(4): 353–80.

23. Alaluusua S. Salivary counts of mutans streptococci and lactobacilli and past caries experience in caries prediction. ***Caries Res*** 1993; 27 Suppl 1: 68–71.

24. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JLและคณะ. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. ***J Clin Microbiol*** 2002; 40(3): 1001–9.

25. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? ***Eur J Oral***

Sci 2005; 113(3): 188–96.

26. Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscu OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. ***Clin Oral Investig*** 2007; 11(4): 425–9.
27. 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.
28. Featherstone JDB. The caries balance: contributing factors and early detection. ***J Calif Dent Assoc*** 2003; 31(2): 129–33.
29. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. ***Oral Dis*** 2005; 11(3): 131–7.
30. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, et al. Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. ***Int J Food Microbiol*** 2004; 95(2): 219–23.
31. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, al et. 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.
32. Lang C, Böttner M, Holz C, Veen M, Ryser M, Reindl A et al. Specific Lactobacillus/Mutans Streptococcus co-aggregation. ***J Dent Res*** 2010; 89(2): 175–9.
33. Comelli EM, Guggenheim B, Stingele F, Neeser J-R. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. ***Eur J Oral Sci*** 2002; 110(3): 218–24.
34. Kang M-S, Chung J, Kim S-M, Yang K-H, Oh J-S. Effect of Weissella cibaria isolates on the formation of Streptococcus mutans biofilm. ***Caries Res*** 2006; 40(5): 418–25.
35. Petti S, Tarsitani G, Simonetti D'Arca A. Antibacterial activity of yoghurt against viridans streptococci in vitro. ***Arch Oral Biol*** 2008; 53(10): 985–90.
36. 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.
37. çAglar E, Topcuoglu N, çIldir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. ***Int J Paediatr Dent***

2009; 19(5): 377–81.

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

39. Daniel C, Poiret S, Goudercourt D, Dennin V, Leyer G, Pot B. Selecting Lactic Acid Bacteria for Their Safety and Functionality by Use of a Mouse Colitis Model. ***Appl Environ Microbiol*** 2006; 72(9): 5799–805.

40. Ligaarden SC, Axelsson L, Naterstad K, Lydersen S, Farup PG. A candidate probiotic with unfavourable effects in subjects with irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. ***BMC Gastroenterol*** 2010; 10(1): 16.

41. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. ***Am J Clin Nutr*** 2001; 73(2): 465s – 470s.

42. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH. Probiotics Reduce the Prevalence of Oral Candida in the Elderly--a Randomized Controlled Trial. ***J Dent Res*** 2007; 86(2): 125–30.

43. Séllos MC, Soviero VM. Reliability of the Nyvad criteria for caries assessment in primary teeth. ***Eur J Oral Sci*** 2011; 119(3): 225–31.

44. Köhler B, Bratthall D. Practical method to facilitate estimation of Streptococcus mutans levels in saliva. ***J Clin Microbiol*** 1979; 9(5): 584–8.

45. Thitasomakul S, Thearmontree A, Piwat S, Chankanka O, Pithpornchaiyakul W, Teanpaisan R. A longitudinal study of early childhood caries in 9- to 18-month-old Thai infants. ***Community Dent Oral Epidemiol*** 2006; 34(6): 429–36.

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

47. Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets. ***Acta Odontol Scand*** 2006; 64(5): 314–8.

48. Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. ***Arch Oral Biol*** 2002; 47(11): 799–804.

49. 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.

50. Samaranayake LP, MacFarlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and Staphylococcus aureus carriage in the oral cavity. ***J Oral Pathol*** 1986; 15(7): 386–8.

51. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. ***Oral Microbiol Immunol*** 2006; 21(5): 326–32.

52. 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.

53. Cildir SK, Sandalli N, Nazli S, Alp F, Caglar E. A novel delivery system of probiotic drop and its effect on dental caries risk factors in cleft lip/palate children. ***Cleft Palate-Craniofacial J Off Publ Am Cleft Palate-Craniofacial Assoc*** 2012; 49(3): 369–72.

54. Caglar 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 Br Paedodontic Soc Int Assoc Dent Child*** 2008; 18(1): 35–9.

55. Aminabadi NA, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in six- to twelve-year-old children: a randomized controlled trial. ***Caries Res*** 2011; 45(2): 148–54.

56. Jindal G, Pandey RK, Agarwal J, Singh M. A comparative evaluation of probiotics on salivary mutans streptococci counts in Indian children. ***Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent*** 2011; 12(4): 211–5.

57. Pedone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P. The effect of supplementation with milk fermented by Lactobacillus casei (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres. ***Int J Clin Pract*** 1999; 53(3): 179–84.

58. Vanderhoof JA, Young RJ. Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders. ***J***

Pediatr Gastroenterol Nutr 1998; 27(3): 323–32.

59. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. ***J Pediatr Gastroenterol Nutr*** 2000; 30(1): 54–60.

60. Gil-Campos M, López MÁ, Rodriguez-Benítez MV, Romero J, Roncero I, Linares MD, et al. Lactobacillus fermentum CECT 5716 is safe and well tolerated in infants of 1-6 months of age: a randomized controlled trial. ***Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc*** 2012; 65(2): 231–8.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบตรวจสุขภาพช่องปาก

ID เด็ก _____ ตรวจครั้งที่_____

แบบตรวจฟัน : โครงการวิจัยผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดี 1 และ/หรือฟลูออไรด์ต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค เชื้อราและสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก

ชื่อเด็ก_____ วันที่ตรวจ

อายุ (เดือน)

วัน / เดือน / พ.ศ. 25..

วันเกิด

เพศ ช=1, ญ=2

วัน / เดือน / พ.ศ. 25...

ศูนย์เด็กเล็ก _____ ผู้ตรวจ _____

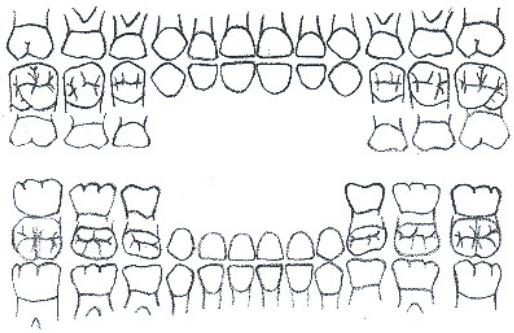
OHI-S

55	51	64
B	La	B
Li	La	Li
84	71	75

0= ฟันสะอาดไม่มีเศษอาหารหรือคราบฟันติดอยู่
1= มีคราบคลุมผิวฟันไม่เกิน 1/3 ของผิวฟัน
2= มีคราบคลุมผิวฟันไม่เกิน 2/3 ของผิวฟัน
3= มีคราบคลุมผิวฟันเกินกว่า 2/3 ของผิวฟัน

Tooth			O	M	B	D	L
55							
54							
53							
52							
51							
61							
62							
63							
64							
65							

Tooth			O	M	B	D	L
75							
74							
73							
72							
71							
81							
82							
83							
84							
85							



12/05/

ภาคผนวก ข

หนังสือรับรองผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัย

RESEARCH ETHICS COMMITTEE (REC)
BUILDING 1 5TH FLOOR ROOM 504
TEL. 66-74-287533, 66-74-287504
FAX. 66-74-287533

FACULTY OF DENTISTRY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY
HADYAI, SONGKHLA 90112, THAILAND
TEL. 66-74-212914, 66-74-429871, 66-74-287500
FAX. 66-74-429871, 66-74-212922

Documentary Proof of Ethical Clearance

Research Ethics Committee (REC)

Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University

The Project Entitled Effect of Powdered Milk Contained Probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1 and/or Fluoride on Mutans Streptococci, Yeast and Caries Status in Young Children

REC Project No. : EC5702-08.P-HR

Principal Investigator : Miss Kamrawee Rangsitsathian
Miss Piyachat Pugjit

Approved by Research Ethics Committee (REC), Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University.

This is to certify that REC is in full Compliance with International Guidelines for Human Research Protection such as the Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP).

Date of Approval : 12 MAY 2014 **No. of Approval** : MOE 0521.1.03/0567

(Asst. Prof. Dr. Srisurang Suttapreyasri)
Chairman of Research Ethics Committee

(Asst. Prof.Surapong Vongvatchranon)

(Dr. Supatcharin Piwat)

(Assoc. Prof. Pornchai Sathirapanya)

(Mr. Kamolphan Nuangsri)

(Asst. Prof. Dr. Angkana Thearmontree)

(Mr. Wasin Suwannarat)

(Asst. Prof. Dr. Suwanna Jitpakdeebodintra)

ภาคผนวก ค

ใบเชิญชวน

ขอเชิญเข้าร่วมโครงการวิจัยเรื่องผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคอายเอสดีวันและ/หรือฟลูออไรด์ต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไค เชื้อราและสภาวะฟันผุในเด็กเล็กเรียน ท่านผู้อ่านที่นับถือ

ข้าพเจ้า ดร.ทพญ.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ใคร่ขอเล่าถึงโครงการวิจัยที่กำลังทำอยู่และขอเชิญชวนท่านเข้าร่วมโครงการนี้

เนื่องจากโรคฟันผุในเด็กเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทยเนื่องจากมีอัตราการผุสูง ปัญหาฟันผุในน้ำนมเป็นปัญหาที่เกิดต่อเนื่องและส่งผลไปจนถึงฟันแท้ สาเหตุสำคัญมาจากการกินอาหารและการดูแลสุขภาพช่องปากที่ไม่เหมาะสม การรักษาทางทันตกรรมในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีความยากลำบากโดยเฉพาะในเด็กเล็กที่ไม่ให้ความร่วมมือ การดูแลป้องกันฟันผุจึงเป็นสิ่งจำเป็น

ทางคณะวิจัยได้คิดค้นวิธีการป้องกันฟันผุอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถปรับใช้เข้ากับชีวิตประจำวันของเด็กตั้งแต่แรกเกิดจนถึงวัยเรียน คือการกินนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก และหรือผสมฟลูออไรด์ โดยทางคณะผู้วิจัยได้มีการศึกษาทั้งจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ และการศึกษาในกลุ่มอาสาสมัครผู้ใหญ่และเด็กโตพบว่าเชื้อโพรไบโอติกคือ เชื้อแลกโตบาซิลลัส พาราเคซิอาย เอสดี 1 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตรปโตคอกคัสมิวแทน ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดฟันผุ และฟลูออไรด์ก็เป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่าเป็นสารที่ช่วยในการป้องกันฟันผุได้ ทางคณะผู้วิจัยคาดว่านมดังกล่าวน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อเด็กเล็กซึ่งมีความเสี่ยงในการเกิดฟันผุสูง และสามารถใช้เป็นวิธีการป้องกันฟันผุในระดับชุมชนได้

ในการศึกษานี้รับอาสาสมัครจากเด็กในกลุ่มอายุ 1-3 ปี จำนวน 120 คน โดยที่เด็กจะต้องมีสุขภาพดี ไม่มีโรคประจำตัว ไม่แพ้นมวัว ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนหน้าการเข้าร่วมโครงการ ไม่ใช้น้ำยาบ้วนปาก และการตรวจภายในช่องปากทางคลินิก มีจำนวนฟันผุไม่เกินร้อยละ 40 ของจำนวนฟันที่มีอยู่ในช่องปาก

หากตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ จะมีการสุ่มให้เข้ากลุ่มการศึกษาหนึ่งใน 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม ซึ่งจะได้รับนมวัวผงธรรมดาที่ไม่ได้มีการผสมใดๆเข้าไป หรือกลุ่มทดลองซึ่งแบ่งออกเป็นสามกลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ได้รับนมผงผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัส พาราเคซิอายเอสดี

1 กลุ่มที่ 2 ได้รับนมผงผสมฟลูออไรด์ และกลุ่มที่ 3 ได้รับนมผงที่ผสมทั้งเชื้อโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดี 1 และฟลูออไรด์ เด็กที่เข้าร่วมการวิจัยจะได้ทานนมที่ทางคณะวิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้วันละ 1 ครั้ง ครั้งละประมาณ 1 แก้ว (200 ซีซี) ทุกวัน โดยครูพี่เลี้ยงชงให้เด็กที่เข้าร่วมวิจัยทานทุกวันจันทร์ถึงศุกร์ที่โรงเรียน และแจกให้ผู้ปกครองชงให้เด็กทานที่บ้านในวันเสาร์และวันอาทิตย์ รวมระยะเวลาทั้งหมด 3 เดือน

โดยขั้นตอนที่เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาต้องปฏิบัติ มีดังนี้

1. ผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับนมผงที่ทางคณะวิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้ปริมาณ 5 กรัม/วัน โดยให้ผสมน้ำประมาณ 200 ซีซี และดื่มทุกวันวันละ 1 ครั้ง โดยครูพี่เลี้ยงชงให้เด็กที่เข้าร่วมวิจัยทานทุกวันจันทร์ถึงศุกร์ที่โรงเรียนและแจกให้ผู้ปกครองชงให้เด็กทานที่บ้านในวันเสาร์และอาทิตย์เป็นระยะเวลา 3 เดือน
2. ได้รับการตรวจภายในช่องปากเพื่อดูสภาวะฟันผุ โดยตรวจ 3 ครั้งคือ ก่อนทานนมและหลังจากหยุดทานนมไปแล้ว 3 และ 9 เดือน ตามลำดับ โดยการตรวจฟันแต่ละครั้งจะใช้เวลาประมาณ นาที 15
3. เก็บตัวอย่างน้ำลายของเด็กครั้งละ 1 ซีซี โดยใช้หลอดดูดขนาดเล็กดูด โดยเก็บ 5 ครั้ง คือ ก่อนทานนม หลังจากหยุดทานนมทันที และหลังจากหยุดทานนมไปแล้ว 1, 3, 9 เดือน ตามลำดับ โดยการเก็บน้ำลายแต่ละครั้งจะใช้เวลาประมาณ 5 นาที
4. ระหว่างการวิจัยจะมีการสอบถามถึงอาการหรือผลข้างเคียง ที่อาจเกี่ยวข้องจากครูพี่ลี้ยงและผู้ปกครองของเด็ก

จากการทบทวนวรรณกรรมถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ จากการทานนมที่มีส่วนผสมของเชื้อโพรไบโอติก ไม่พบว่ามีอันตรายหรือผลข้างเคียงใดๆเกิดขึ้นจากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีโพรไบโอติกในคนทั่วไป อย่างไรก็ตามมีรายงานการติดเชื้อเกิดขึ้นในผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบและผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องเท่านั้น โดยพบอัตราการติดเชื้อต่ำมากคิดเป็น 0.05%-0.4% สำหรับนมฟลูออไรด์นั้นยังไม่มีรายงานใดกล่าวถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น เนื่องจากปริมาณฟลูออไรด์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้น้อยกว่าปริมาณที่อาจก่อเกิดอาการจากฟลูออไรด์เกินถึง 200 เท่า แต่<u>หากเด็กมีอาการแพ้หรือมีอาการที่สงสัยว่าเกิดจากนมที่ได้รับได้แก่ อาการที่เกิดจากการได้รับฟลูออไรด์มากเกินคือ คลื่นไส้ อาเจียน มีน้ำลายมาก ปวดท้อง ท้องเสีย หรือมีอาการที่เกิดจากการได้รับเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือดซึ่งอาจมีอาการดังนี้ มีอาการไข้ มีรอยแดง ตุ่มพองหรือตุ่มหนองบริเวณผิวหนัง แขนขาและลำตัวได้</u> ครูพี่เลี้ยงและผู้ปกครองสามารถให้เด็กหยุดทานนมลงข้อมูลในแบบบันทึกอาการข้างเคียงและแจ้งให้ทางทีมผู้วิจัยทราบได้ทันทีเพื่อให้ทางทีมผู้วิจัยได้ตรวจสอบและทำการแก้ไขปัญหาได้

ในโครงการนี้หากอาสาสมัครได้รับผลเสียหายหรืออันตรายใดๆ ที่เป็นผลที่เกิดจากทานนมผงที่ผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอายเอสดี1 และ/หรือผสมฟลูออไรด์ ทางคณะวิจัยจะรับผิดชอบค่ารักษาทั้งหมดตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ หากอาสาสมัครต้องการติดต่อผู้วิจัย สามารถติดต่อได้ที่ ดร.ทพญ.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ เบอร์โทร 089-7374488 E-mail : supacharin.p@psu.ac.th

ไม่ว่าท่านจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้หรือไม่ ท่านจะยังคงได้รับการรักษาที่ดีเช่นเดียวกับผู้ป่วยคนอื่นๆและถ้าท่านต้องการที่จะถอนตัวออกจากการวิจัยนี้เมื่อใด ท่านก็สามารถกระทำได้อย่างอิสระ คณะผู้วิจัยจะดำเนินการศึกษาตามรายละเอียดที่ระบุไว้อย่างเคร่งครัด หากมีการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับอาสาสมัคร ผู้วิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบโดยเร็ว

หากมีคำถามใดๆก่อนที่จะตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ ท่านสามารถซักถามคณะผู้วิจัยได้อย่างเต็มที่

ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ดร.ทพญ.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์

หัวหน้าโครงการ

เบอร์โทร 089-7374488 E-mail : supacharin.p@psu.ac.th

หมายเหตุ :- กรุณาอ่านข้อความให้เข้าใจก่อนเซ็นชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการ

ภาคผนวก ง

แบบยินยอมเข้าร่วมศึกษา

โครงการวิจัยเรื่อง ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคซิอาย เอสดีวันต่อเชื้อมิวแทนสเตรปโตคอคไคและสภาวะฟันผุในเด็กเล็ก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า.....ผู้ปกครองของ ด.ช.ด.ญ.....

อายุ.....ปี อาศัยอยู่บ้านเลขที่.....ถนน.....ตำบล.....

อำเภอ.....จังหวัด.....

ได้อ่าน/ได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว

หากข้าพเจ้าได้รับผลข้างเคียงที่พิสูจน์ได้ว่ามาจากการวิจัย ข้าพเจ้าจะได้รับการปฏิบัติ/การชดเชย ดังนี้คือได้รับการดูแลและรักษาพร้อมทั้งค่ารักษาตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โดยผู้รับผิดชอบโครงการวิจัยนี้คือ ดร.ทพญ.สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ สถานที่ติดต่อ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เบอร์โทรศัพท์ 089-7374488 E-mail : supacharin.p@psu.ac.th หรือเมื่อมีปัญหาใดๆเกิดขึ้นเนื่องจากการทำการวิจัยในเรื่องนี้ข้าพเจ้าสามารถร้องเรียนไปที่คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112 โทรศัพท์ 074-287-510

หากผู้วิจัยมีข้อมูลเพิ่มเติมทั้งด้านประโยชน์และโทษที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะแจ้งให้ข้าพเจ้าทราบอย่างรวดเร็ว โดยไม่ปิดบัง

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะของดการเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยมิต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า โดยการงดการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบต่อการได้รับบริการหรือการรักษาที่ข้าพเจ้าจะได้รับแต่ประการใด

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ จะไม่เปิดเผยข้อมูลหรือผลการวิจัยของข้าพเจ้าเป็นรายบุคคลต่อสาธารณชน จะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย หรือการเปิดเผยข้อมูลต่อผู้มีหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการสนับสนุนและกำกับดูแลการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่าน/ได้รับการอธิบายข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ จึงได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ โดยนักวิจัยได้ให้สำเนาแบบยินยอมที่ลงนามแล้วกับข้าพเจ้าเพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐาน จำนวน 1 ชุด

ลงชื่อ.....บิดา/ผู้ใช้อำนาจปกครอง/ผู้แทนผู้ใช้อำนาจ

ลงชื่อ.....มารดา

ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการ

ลงชื่อ.....พยาน

ลงชื่อ.....พยาน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวกานต์รวี รังสิตเสถียร

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5610820001

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	**ชื่อสถาบัน**	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**
ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2553

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ จากเงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2557 ครั้งที่ 2

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ทันตแพทย์ชำนาญการ กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลควนกาหลง อำเภอควนกาหลง จังหวัดสตูล

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

กานต์รวี รังสิตเสถียร, สุพัชรินทร์ พิวัฒน์, รวี เถียรไพศาล, นุชนรี อัครชนียากร. ผลของนมที่มีส่วนผสมของโพรไบ
ทุนปัญญาสู่อาเซียน” ประจำปี 2558; วันที่ 16-17 กรกฎาคม 2558; ณ ศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การ