นิพนธ์ต้นฉบับ | Original Article

ผลของนมเปรี้ยวผสมโพรไบโอติกส์ต่อการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ของนักเรียนชั้นอนุบาล ในโรงเรียนเทศบาลกระสัง

Effect of Probiotics Sour milk on The Occurrence of New Caries of Students in The Krasang Subdistrict Municipality School

*กษิดิ์เดช ศิริเวชยันต์, ท.บ. **
*Kasidech siriwejayant, D.D.S. **
**ทันตแพทย์ชำนาญการ กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลกระสัง จังหวัดบุรีรัมย์ ประเทศไทย 31160*
**Dentist Professional level, Dental department, Krasang Hospital, Buri Ram Province, Thailand, 31160*
**Corresponding author, E-mail address: teedent@hotmail.com*
Received: 3 April 2020. Revised: 20 April 2020. Accepted: 4 August 2020

บทคัดย่อ

หลักการและเหตุผล : จากผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากแห่งชาติครั้งที่ 8 พ.ศ. 2560 พบว่า ในเด็กอายุ 5 ปี มีคราบจุลินทรีย์เสี่ยงต่อการเกิดโรคฟันผุ มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ Lactobacillus rhamnosus SD 11 ซึ่งเป็นโพรไบโอติกส์ที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีความสามารถในการเกาะติดเยื่อบุในช่องปากและพบการสร้างโปรตีนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคฟันผุ เพื่อศึกษาผลลัพธ์ทางคลินิกในการป้องกันการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ในอาสาสมัครโรงเรียนเทศบาลกระสัง

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลลัพธ์ในการป้องกันฟันผุของนมเปรี้ยวที่ผสมโพรไบโอติกส์เปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวที่ไม่ผสมโพรไบโอติกส์ในเด็กนักเรียนอนุบาลโรงเรียนเทศบาลกระสัง จังหวัดบุรีรัมย์

วิธีการศึกษา : มีอาสาสมัครเข้าร่วม 62 คน เป็นเด็กอายุ 5-6 ปี การศึกษาดำเนินการที่โรงเรียนเทศบาลกระสัง จังหวัดบุรีรัมย์ อาสาสมัครทุกคนได้รับการตรวจรอยโรคฟันผุ 1 ครั้ง ก่อนได้รับนมเปรี้ยว จากนั้นอาสาสมัครทั้งหมดได้รับการสุ่มแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ได้รับนมเปรี้ยวที่มีโพรไบโอติกส์ (คือหัวเชื้อ *L. rhamnosus* SD 11) และกลุ่มที่ได้รับนมเปรี้ยวที่ไม่มีหัวเชื้อดังกล่าว โดยอาสาสมัครได้รับนมเปรี้ยววันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน ในเดือนที่ 3 และ 6 อาสาสมัครจะได้รับการตรวจรอยโรคฟันผุ เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับนมเปรี้ยวผสมโพรไบโอติกส์ และกลุ่มที่ได้รับนมเปรี้ยวที่ไม่ได้ผสมโพรไบโอติกส์

ผลการศึกษา : ที่เวลา 6 เดือน (T6) พบว่ากลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีจำนวนซี่ฟันที่ปราศจากรอยโรคฟันผุมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป : การรับประทานนมผสมโพรไบโอติกส์อย่างต่อเนื่องติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 6 เดือน สามารถให้ผลในการลดการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ได้ในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 5-6 ขวบ

คำสำคัญ : โพรไบโอติกส์ ฟันผุ การป้องกันฟันผุ มิวแทนต์สเตร็ปโตคอคไค แลคโตบาซิลไล

วารสารการแพทย์โรงพยาบาลศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ 2563;35(2): 421-429

ABSTRACT

Background : According to the results of the 8th national oral health survey 2017, it is found that in children aged 5 years, there is a risk of developing dental caries more than 40 percent. *Lactobacillus rhamnosus* SD 11, a proven probiotics with the ability to adhere to the oral mucosa and find a protein that can inhibit the growth of dental caries. This probiotic was studied in order to find clinical outcome in preventing the occurrence of new dental caries in volunteers at Krasang Municipality School, Buriram Province.

Objectives : To study the effects of tooth decay protection on sour milk mixed with probiotics in comparison with sour milk without probiotics in curdling at the municipal school of Krasang School, Buriram Province.

Methods : 62 subjects at 5-6 years of age from Krasang Municipality school were participating in this study. The subjects were randomly divided into 2 groups: the experimental group receiving sour milk containing probiotics (*L.rhamnosus* SD 11) and the control group receiving sour milk without probiotics. The sour milk was given 1 time daily for 6-month experimental period. Dental caries was recorded 3 times: before sour milk administered, after 3 months and after 6 months, respectively to compare the differences of new carious lesion occurrence between groups receiving sour milk with and without probiotics.

Results : At 6 months (T6), it was found that the group receiving probiotics milk had significantly more teeth without tooth decay than the control group

Conclusion : Receiving probiotic milk continuously for 6 months can reduce the incidence of new caries in volunteers aged 5-6 years

Keywords : probiotics, dental caries, caries prevention, mutans streptococci, lactobacilli.

Med J Srisaket Surin Buriram Hosp 2020;35(2): 421-429

หลักการและเหตุผล

จากผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากแห่งชาติครั้งที่ 8 พ.ศ. 2560 พบว่า มีผู้ปราศจากโรคฟันผุในเด็กอายุ 5 ปี เพียง 24.4 เปอร์เซ็นต์ และในเด็กกลุ่มดังกล่าว มีคราบจุลินทรีย์เสี่ยงต่อการเกิดโรคฟันผุมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปัจจัยเสี่ยงจากพฤติกรรมสุขภาพคือ การดื่มนมหวานและนมเปรี้ยวกว่า 47.6 เปอร์เซ็นต์[1] และมีแนวโน้มความรุนแรงเพิ่มสูงขึ้นในช่วงวัยรุ่น โพรไบโอติกส์ (Probiotics) คือรูปแบบของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง เมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่พอเหมาะจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกายอาจให้ผลในการป้องกันหรือรักษาโรคได้[2] โดยการที่เชื้อดังกล่าวจะช่วยป้องกันร่างกายไม่ให้เจ็บป่วยจากแบคทีเรียก่อโรคด้วยกลไกต่างๆ ได้แก่ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันร่างกายให้มีความเตรียมพร้อมในการต้านแบคทีเรียก่อโรค อีกทั้งยังช่วยแย่งพื้นที่ รวมทั้งอาหารในร่างกาย ทำให้แบคทีเรียก่อโรคมีโอกาสในการอยู่รอดในร่างกายน้อยลง อีกทั้งโพรไบโอติกส์บางชนิดยังสามารถสร้างสารต้านจุลชีพและกรดในการต้านทานเชื้อก่อโรค ในทางทันตกรรมได้มีการประยุกต์ใช้โพรไบโอติกส์กันอย่างแพร่หลายมากยิ่งขึ้น ที่เห็นได้ชัดจากงานวิจัยต่างๆ ในปัจจุบันคือการนำเอาโพรไบโอติกส์มาใช้ในการป้องกันโรคฟันผุ อย่างไรก็ตามยังคงมีงานวิจัยที่ศึกษาผลต่อการยับยั้งการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ค่อนข้างน้อยและการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในต่างประเทศ ทั้งสิ้น[3-5]

ในปัจจุบันมีการผสมโพรไบโอติกส์ลงในผลิตภัณฑ์หลากหลายประเภท เช่นผลิตภัณฑ์นม นมอัดเม็ดเป็นต้น ซึ่งแต่ละผลิตภัณฑ์ต่างก็ใช้โพรไบโอติกส์ที่หลากหลายสายพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่นโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Lactobacillus paracasei* SD1 ซึ่งมีความสามารถในการเกาะติดเยื่อบุในช่องปากและพบการสร้างโปรตีนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคฟันผุคือ *Mutans streptococci* จากการนำน้ำลายของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับโพรไบโอติกส์ดังกล่าวไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่พบว่ามีผลข้างเคียงใดๆ ต่ออาสาสมัคร[5] จึงถือได้ว่ามีความเหมาะสมในการศึกษาผลของโพรไบโอติกส์ต่อการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ในอาสาสมัครโรงเรียนเทศบาลกระสังโดยการศึกษาในครั้งนี้จะแตกต่างจากการศึกษาดังกล่าว โดยไม่ได้วัดปริมาณเชื้อจากน้ำลายที่เก็บได้จากตัวอย่างแต่เป็นการวัดการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่โดยตรง

เป็นที่ทราบกันดีว่าการเกิดฟันผุมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยประกอบกัน ปัจจัยหลักที่สำคัญได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ อาหารของจุลินทรีย์อันได้แก่อาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตจากองค์ประกอบภายในช่องปากของผู้ป่วย และระยะเวลาที่สภาพในช่องปากเป็นกรดในกลไกปกติผิวฟันมีทั้งการสูญเสียแร่ธาตุ (Demineralization) และการคืนกลับและธาตุ (Remineralization) อยู่ตลอดเวลา เมื่อไหร่ก็ตามที่เกิดการเสียสมดุลจนสภาวะความเป็นกรดในช่องปากอยู่ในระดับวิกฤต pH 5.2 ถึง 5.5 จะเกิดการสูญเสียแร่ธาตุมากกว่าการคืนกลับ จนนำไปสู่การเกิดฟันผุในที่สุด[6,7]

เชื้อจุลินทรีย์ซึ่งถือได้ว่าเป็นสาเหตุหลักของการเกิดฟันผุนั้นมีด้วยกันหลายชนิดโดยกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดฟันผุมากที่สุดก็คือสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์ *(Streptococcus mutans)* ซึ่งเชื้อดังกล่าวนี้มีความสามารถในการสร้างกรดและทนอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดได้ดีนอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารช่วยยึดเกาะกับพื้นผิวฟันได้ โดยการใช้โมเลกุลกลูโคสสร้างสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำเช่นเด็กซ์แทรน (Dextran) และมิวแทน (Mutan) สารเหล่านี้ทำให้เชื้อสามารถเพิ่มจำนวนบนผิวฟันได้มากขึ้นทั้งยังเหนี่ยวนำเชื้อก่อฟันผุอื่นๆ ให้มายึดเกาะโดยเฉพาะเชื้อที่มีความสามารถในการทนกรดซึ่งมีผลทำให้สมดุลของเชื้อในช่องปากเปลี่ยนแปลง โดยปริมาณเชื้อที่ทนต่อกรด มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นและเชื้ออื่นมีปริมาณลดลง ส่งเสริมให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่เอื้อต่อการเกิดฟันผุมากยิ่งขึ้น[8,9]

ดังนั้น หากเราสามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติต่างๆ อันได้แก่ 1) เป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายอยู่แล้ว 2) สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในช่องปาก 3) ให้ประโยชน์และไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย และ 4) สามารถยึดติดกับผิวฟันได้ดี 5) สามารถเป็นตัวแข่งขันในการแย่งพื้นที่ แย่งอาหารของเชื้อก่อโรคฟันผุมาใช้ย่อมสามารถลดการเพิ่มจำนวนเชื้อก่อโรคฟันผุและลดการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ได้ ซึ่งเราเรียกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์กับร่างกายเหล่านี้ว่าโพรไบโอติกส์[10] กลไกการทำงานของโพรไบโอติกส์ในการยับยั้งหรือกำจัดเชื้อก่อโรคฟันผุมักมีกลไกดังนี้ได้แก่ 1) การเข้าจับกับเชื้อก่อโรคเพื่อลดฤทธิ์ในการก่อโรค 2) การแข่งขันกับเชื้อในการยึดเกาะกับพื้นผิวต่างๆ 3) การแย่งอาหารหรือปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค 4) การสร้างสารต่างๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค 5) การยับยั้งการออกฤทธิ์ของสารพิษจากเชื้อก่อโรค ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สามารถต่อต้านเชื้อก่อโรคได้มากขึ้น[10,11]

แลคโตบาซิลลัสเป็นจุลินทรีย์ชนิดแกรมบวก มีทั้งรูปร่างเป็นท่อนและต่อกันเป็นสายสั้นๆ สามารถพบได้ทั่วไปในช่องปากของมนุษย์มีคุณสมบัติในการทนต่อกรด โปรตีนที่เกิดจากการย่อยอาหารของแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถรบกวนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่รอบข้างได้ จากการศึกษาของ Piwat และคณะ[12] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นกับระดับการเกิดฟันผุในเด็กโดยทำการศึกษาแลคโตบาซิลลัส *(Lactobacillus)* หลายสายพันธุ์ เพื่อค้นหาเชื้อที่จะสามารถเป็นโพรไบโอติกส์ในการป้องกันฟันผุ โดยการคัดแยกเชื้อแลคโตบาซิลลัสจากช่องปากเด็กที่ปราศจากฟันผุมาทำการศึกษาในอาสาสมัครกลุ่มต่างๆ และพบว่าเชื้อแลคโตบาซิลลัส แรมโนซัส *(Lactobacillus rhamnosus)* มีความสามารถในการเกาะติดเยื่อบุใน

ช่องปาก อีกทั้งยังสามารถสร้างโปรตีนที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปากรวมทั้งเชื้อโรคฟันผุ และที่สำคัญไม่พบรายงานผลข้างเคียงใดๆ ในอาสาสมัครที่เป็นเด็กเล็กอายุ 2-3 ปี จึงกล่าวได้ว่าแลคโตบาซิลลัสแรมโนซัส มีคุณสมบัติในการเป็นโพรไบโอติกส์ได้[13]

พบว่ามีการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกส์ในการป้องกันการเกิดฟันผุหลายงานวิจัยด้วยกัน โดยส่วนใหญ่จะเป็นการทดลองแบบอำพรางสองทางสุ่มและมีกลุ่มควบคุม (Double blind randomized controlled trial) จากการทบทวนวรรณกรรมในอดีตพบว่าส่วนใหญ่เป็นการทดสอบเพื่อดูความสามารถในการลดปริมาณเชื้อก่อโรคฟันผุในช่องปาก ซึ่งเป็นเพียงผลทางอ้อมแต่ไม่ได้บ่งชี้ถึงการป้องกันรอยโรคฟันผุใหม่โดยตรง สำหรับงานวิจัยที่ใช้การตรวจบันทึกรอยโรคฟันผุใหม่ในช่องปากโดยใช้ตัวชี้วัดคือการเกิดฟันรอยโรคฟันผุใหม่โดยตรง (Caries increment) ยังคงมีน้อยมาก[14-17] จากการศึกษาในอดีตที่ผ่านมาพบว่าโพรไบโอติกส์สามารถเพิ่มปริมาณ Salivary human neutrophil peptide 1-3 (HNP 1-3) ซึ่งพบว่ามักมีระดับสูงในผู้ป่วยที่ปราศจากฟันผุ (Caries free) นอกจากนี้ยังพบผลในการลดการเกิดฟันผุในส่วนของหลุมและร่องฟันได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมในระยะเวลา 6 เดือน[17]

การศึกษาในครั้งนี้เลือกใช้ ICDAS score หรือThe International Caries Detection and Assessment System[18,19] เป็นดัชนีในการติดตามการดำเนินของรอยโรคฟันผุ เนื่องจากเป็นระบบที่ค่อนข้างไวสามารถจำแนกระยะของรอยโรคได้รวดเร็ว จึงนับได้ว่ามีความเหมาะสมในการติดตามศึกษาระยะสั้น โดยเฉพาะระยะที่มีรอยโรคเกิดแล้วแต่ยังไม่เกิดเป็นรู (Cavity) ในการวิจัยครั้งนี้จึงพิจารณาให้ตรวจฟันอาสาสมัครทุกรายและทุกครั้งคือช่วงก่อนเริ่มทำการวิจัย 3 เดือน หลังเริ่มทำการวิจัยและ 6 เดือน หลังเริ่มการวิจัยที่แผนกทันตกรรมโรงพยาบาลกระสัง เพื่อศึกษาผลลัพธ์ในการป้องกันฟันผุของนมเปรี้ยวที่ผสมโพรไบโอติกส์เปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวที่ไม่ผสมโพรไบโอติกส์ในเด็กนักเรียนอนุบาลโรงเรียนเทศบาลกระสัง

ระเบียบวิธีวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม (Randomized control trial study) โดยอาสาสมัครคือนักเรียนโรงเรียนเทศบาลกระสังอายุ 5-6 ปี ซึ่งให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและเข้าเกณฑ์การคัดเข้าจะได้รับการสุ่มเพื่อเข้าสู่การวิจัยโดยแบ่งเป็นกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม สำหรับขนาดของกลุ่มตัวอย่างคำนวณจากสูตรของเครจซี่และมอร์แกน (Krejcie & Morgan) โดยมีระดับความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ 5% และระดับความเชื่อมั่น 95% ได้จำนวนอาสาสมัครที่สามารถเป็นตัวแทนของประชากร จำนวน 56 คน พิจารณาเพิ่มจำนวนอาสาสมัครเพื่อป้องกันกลุ่มตัวอย่างสูญหายระหว่างการวิจัย 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 คน รวมทั้งสิ้น 62 คน ภายหลังจากการสุ่มด้วยวิธีสุ่มแบบแบ่งชั้น (Stratified randomization) โดยใช้จำนวนซี่ฟันที่ผุในแต่ละระดับเป็นตัวกำหนดแต่ละชั้น อาสาสมัครทั้งสองกลุ่มจะได้รับนมเปรี้ยวที่มีบรรจุภัณฑ์คล้ายกันขนาดขวด 100 มิลลิลิตรของบริษัทแดรี่โฮมจำกัด เป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มซึ่งใช้ maltitol เป็นสารให้ความหวาน ในงานวิจัยนี้ออกแบบให้บรรจุภัณฑ์หนึ่งผสมโพรไบโอติกส์คือแลคโตบาซิลลัสแรมโนซัส (*Lactobacillus rhamnosus* SD 11) ซึ่งเตรียมเชื้อดังกล่าวจากวิธีการ Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RELP) และ Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis และอีกบรรจุภัณฑ์หนึ่งที่ไม่มีโพรไบโอติกส์ข้างต้นผสม บรรจุภัณฑ์ทั้งสองแบบถูกอำพรางจากผู้ดูแลอาสาสมัคร

อาสาสมัครทุกคนได้รับการควบคุมตัวแปรภายนอกต่างๆ ที่มีผลต่อตัวแปรตามคือรอยโรคฟันผุใหม่ โดยอาสาสมัครทุกคนได้รับอาหารกลางวันและอาหารว่างที่มีประโยชน์ทางโภชนาการและมีระดับน้ำตาลต่ำ (Low sugar diet) วันละ 1 มื้อจากโรงเรียนเหมือนกัน มีการควบคุมไม่ให้อาสาสมัครทั้งหมดรับประทานอาหารอื่นนอกเหนือจากเมนูอาหารสุขภาพที่ทางโรงเรียนกำหนดขึ้นในช่วงเวลาเรียนซึ่งอ้างอิงจากระบบแนะนำสำหรับอาหารกลางวันสำหรับโรงเรียนแบบอัตโนมัติ (Thai School Lunch) สำหรับนอกเวลาเรียนใน

ช่วงวันเสาร์และวันอาทิตย์ ทางผู้วิจัยได้ทำการแจกนมให้อาสาสมัครนำกลับไปรับประทานที่บ้านและผู้ปกครองนำขวดบรรจุภัณฑ์ที่หมดแล้วนำกลับมาส่งคืนที่คุณครู จากนั้นรวบรวมส่งให้ผู้วิจัยเพื่อเป็นการตรวจสอบความร่วมมือในการบริโภคนมของอาสาสมัคร โดยระหว่างนี้อาสาสมัครจะไม่ได้รับนมชนิดอื่นๆ ตลอดการทดลองและมีการจัดประชุมผู้ปกครองเพื่อให้ความรู้ถึงโทษของการเกิดฟันผุและอาหารที่เหมาะสมต่ออาสาสมัครตามช่วงอายุทุกเดือนเดือนละ 1 ครั้ง และอาสาสมัครทุกคนได้รับการแปรงฟันโดยมีคุณครูผู้สอนเป็นคนนำการแปรงฟันวันละ 1 ครั้งหลังมื้ออาหารเหมือนกัน สำหรับเกณฑ์การตรวจพิจารณาลักษณะการดำเนินรอยโรคฟันผุโดยยึดตามเกณฑ์ ICDAS score ดังนี้

ICDAS score	Description
0	Sound tooth surface
1	First visual change in enamel: Opacity or discoloration (white or brown) is visible at the entrance to the pit or fissure seen after prolonged air drying
2	Distinct visual change in enamel visible when wet, lesion must be visible when dry
3	Localized enamel breakdown
4	Underlying dark shadow from dentine
5	Distinct cavity with visible dentine
6	Extensive (more than half the surface) distinct cavity with visible dentine

ผลการตรวจที่บันทึกได้ในอาสาสมัครแต่ละคนจะถูกนำมาแบ่งออกเป็นกลุ่มตามลักษณะทางคลินิกออกเป็น 3 กลุ่มได้แก่ 1) กลุ่ม Sound หมายถึง ผิวฟันปกติ (มีคะแนนเท่ากับ 0) 2) กลุ่ม Non-Cavitated caries หมายถึง ซี่ฟันผุไม่เป็นรู (มีคะแนน 1 และ 2) และ 3) กลุ่ม Cavitated caries หมายถึง ซี่ฟันผุเป็นรู (มีคะแนน 3,4,5 และ 6) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโรคฟันผุแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่ม Stable หมายถึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคเมื่อเวลาผ่านไป 2) กลุ่ม Progress หมายถึงมีการดำเนินของรอยโรคฟันผุที่มากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปและ 3) กลุ่ม Regress หมายถึงมีการดำเนินของรอยโรคลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

การเก็บข้อมูลได้จากการตรวจฟันเปรียบเทียบก่อนได้รับนมเปรี้ยวและหลังจากได้รับนมเปรี้ยวที่เวลา 3 และ 6 เดือน ด้วยแบบทดสอบที่จัดทำขึ้นเพื่อบันทึกค่าฟันผุตาม ICDAS score งานวิจัยทั้งหมดถูกอำพรางจากทันตแพทย์ผู้ทำการตรวจและผู้ทำการตรวจทั้ง 3 ครั้งเป็นทันตแพทย์คนเดียวกัน โดยนำผลการตรวจฟันผุที่ได้มาทำการเปรียบเทียบความแตกต่างจำนวนซี่ฟันตามลักษณะทางคลินิกระหว่างกลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมที่เวลา 3 และ 6 เดือนและเปรียบเทียบความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงรอยโรคฟันผุ (Progress, Stable, Regress) ระหว่างกลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมที่เวลา 3 และ 6 เดือนด้วย Mann Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

จากการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มพบว่าอายุเฉลี่ยและเพศของทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value>0.05) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและร้อยละของเพศของอาสาสมัคร และแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุของอาสาสมัครโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมที่เวลาเริ่มต้น (T0)

ข้อมูลเพศของอาสาสมัคร	Total N = 62	Probiotic group N = 31	Control group N = 31	p-value
Gender				
Male, N (%)	32(100%)	16(50%)	16(50%)	1.0000
Female, N (%)	30(100%)	15(50%)	15(50%)	
Age (year), (mean ± SD)	5.6±0.03	5.6±0.03	5.5±0.03	0.4614

ที่เวลาเริ่มต้น (T0) พบว่าจำนวนซี่ฟันตามการจำแนกลักษณะทางคลินิก (Sound, Non-Cavitated caries, Cavitated caries) ของทั้งกลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อกลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมได้รับนมเป็นเวลา 3 เดือน (T3) พบว่าจำนวนซี่ฟันตามการจำแนกลักษณะทางคลินิกของทั้งกลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ที่เวลา 6 เดือน (T6) พบว่ากลุ่มที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีจำนวนซี่ฟันที่ปราศจากรอยโรคฟันผุ (Sound tooth) เท่ากับ11.6 ± 4.5 (95%CI: 11 (10,13)) ซึ่งมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมเท่ากับ 8.5 ± 5.4 (95%CI: 9 (6.5,10.5)) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ (p-value = 0.02) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย ค่ากลาง 95%CI และผลเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงจำนวนซี่ฟันผุในกลุ่มต่างๆ (Sound, Non-cavitated caries, Cavitated caries) ระหว่างอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์ที่เวลาเริ่มต้น (T0), 3 เดือน (T3) และ 6 เดือน (T6) และกลุ่มควบคุม

	Probiotic group N = 31		Control group N = 31		p-value
	mean ± SD	Median (95% CI)	mean ± SD	Median (95% CI)	
T0					
S	104±3.7	11(9,12)	9.1±5	10(7,11)	0.3095
NC	3.3.3±2	3(2.5,4)	2.8±2.3	2(2,3.7)	0.3415
C	5±4.3	4(3.4,6.6)	5.5±4	5(4,7)	0.4883
T3					
S	11.3±4.4	11 (10,13)	9.6±5.2	11 (7.7,11.5)	0.2677
NC	2.6 ±2.3	2 (1,3)	2.3±2.4	2 (1,3)	0.5796
C	4.7±4.4	4 (3,6)	5.4±4	5 (4,7)	0.3220
T6					
S	11.6±4.5	11 (10,13)	8.5±5.4	9 (6.5,10.5)	0.0257*
NC	2.5±2	3 (1.8,3.2)	2.7± 3	2 (1.7,3.8)	0.7684
C	4.6 ±4.3	4 (3,6)	6 ±4	6 (4.6,7.7)	0.0786

เมื่อทำการจำแนกจำนวนซี่ฟันของผู้ป่วยแต่ละคนออกเป็นกลุ่มต่างๆ ตามการเปลี่ยนแปลงของดัชนีเมื่อเวลาผ่านไปตั้งแต่ก่อนเริ่มการทดลองจนเมื่อเวลาผ่านไป 3 และ 6 เดือนออกเป็นกลุ่มต่างๆ ได้แก่ Progress, Stable และ Regress พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน จำนวนฟันที่เปลี่ยนแปลงในกลุ่ม Regress ของอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์เท่ากับ 2.5 ± 1.5 (95%CI: 2 (2,3)) ซึ่งมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมเท่ากับ 1.5 ± 1.8 (95%CI: 1 (0,2)) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย ค่ากลาง 95%CI และผลเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงจำนวนซี่ฟันผุในกลุ่มต่างๆ (Progress, Stable Regress) ระหว่างอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์เป็นเวลา 3 เดือน และกลุ่มควบคุม

Caries change	Probiotic group		Control group		p-value
	Mean ± SD	Median (95%CI)	Mean ± SD	Median (95%CI)	
Progress	1.0 ± 0.9	1(0,1)	1.4 ± 1.8	1(0,2)	0.7121
Stable	15.0 ± 2.4	15.0 (14,16)	14.5 ± 3.6	15.0(14,16)	0.6285
Regress	2.5 ± 1.5	2 (2,3)	1.5 ± 1.8	1(0,2)	0.001**

พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือนจำนวนฟันที่เปลี่ยนแปลงในกลุ่ม Progress ของอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีค่าเท่ากับ 0.9 ± 1.0 (95%CI: 1 (0,1)) ซึ่งมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับนมที่ไม่ได้ผสมโพรไบโอติกส์ที่มีค่าเท่ากับ 3.4 ± 3.0 (95%CI: 3 (1,4)) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับกลุ่ม Stable พบว่าจำนวนฟันของอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีค่าเท่ากับ 14.6 ± 2.3 (95%CI: 15 (14,16)) ซึ่งมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับนมที่ไม่ได้ผสมโพรไบโอติกส์ที่มีค่าเท่ากับ 12.4 ± 4.3 (95%CI: 13 (10,15)) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสำหรับกลุ่ม Regress ของอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีค่าเท่ากับ 3.0 ± 1.3 (95%CI:3 (2,4)) ซึ่งมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมเท่ากับ 1.6 ± 1.4 (95%CI: 1 (1,2)) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย ค่ากลาง 95%CI และผลเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงจำนวนซี่ฟันผุในกลุ่มต่างๆ (Progress, Stable, Regress) ระหว่างอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์เป็นเวลา 6 เดือน และกลุ่มควบคุม

Caries change	Probiotic group		Control group		p-value
	Mean ± SD	Median (95%CI)	Mean ± SD	Median (95%CI)	
Progress	0.9 ± 1.0	1(0,1)	3.4 ± 3.0	3(1,4)	< 0.0001***
Stable	14.6 ± 2.3	15(14,16)	12.4 ± 4.3	13(10,15)	0.0214*
Regress	3.0 ± 1.3	3(2,4)	1.6 ± 1.4	1(1,2)	< 0.0001***

วิจารณ์

งานวิจัยในครั้งนี้มีอาสาสมัครเข้าร่วมทั้งสิ้น 62 คน โดยที่อาสาสมัครทั้งหมดให้ความร่วมมืออย่างดีในการรับประทานนมและรับการตรวจช่องปากทุกครั้งที่โรงพยาบาลกระสัง เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะประชากรพื้นฐานของกลุ่มอาสาสมัครทั้งเพศ อายุ และปริมาณฟันผุก่อนเริ่มงานวิจัย พบว่าข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ในระหว่างงานวิจัยอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มได้รับการดูแลจากคุณครูประจำชั้นเพื่อดื่มนมตามที่กำหนดทุกวันและให้ผู้ปกครองนำขวดบรรจุภัณฑ์ที่หมดแล้วนำกลับมาส่งยังคุณครู ทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นเพื่อเป็นการลดปัญหาตัวแปรกวนต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อผลการวิจัยได้ ผลการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาจำนวนฟันผุในช่องปากโดยพบว่ากลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับ

นมผสมโพรไบโอติกส์มีจำนวนซี่ฟันที่ปราศจากรอยฟันผุ (Sound tooth) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 6 เดือน ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างในกลุ่ม Non-Cavitated caries และ Cavitated caries ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากโพรไบโอติกส์ไม่สามารถให้ผลในกรณีฟันผุเป็นโพรงและมีการกักเก็บเชื้อโรคเป็นจำนวนมากหรือฟันที่มีการสูญเสียแร่ธาตุไป และเมื่อศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของดัชนีฟันผุในช่องปาก พบว่าที่เวลา 6 เดือน กลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับนมผสมโพรไบโอติกส์มีจำนวนฟันผุเพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่มควบคุม มีจำนวนฟันผุลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุมและมีจำนวนฟันที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nase และคณะ ที่ทำการศึกษาผลของเชื้อโพรไบโอติกส์ *L. rhamnosus* GG ต่อเชื้อ *Mutans streptococci* เป็นเวลา 7 เดือน ในเด็กอายุระหว่าง 1-7 ปี พบว่ามีปริมาณฟันผุน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[3]

การศึกษาหนึ่งในอดีตซึ่งใช้โพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัสแรมโนซัสผสมในโยเกิร์ตให้อาสาสมัครรับประทานและติดตามผลพบว่าภายหลังจากหยุดรับประทานไปแล้วเป็นเวลา 3 เดือนพบเชื้อ *Mutans streptococci* คงมีจำนวนลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[20] จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัสแรมโนซัส มีความสามารถคงอยู่ในช่องปากเพียงชั่วคราวแต่ไม่สามารถอยู่ได้อย่างถาวร ซึ่งทำให้การป้องกันฟันผุด้วยการใช้โพรไบโอติกส์จำเป็นที่จะต้องได้รับอย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอจึงจะสามารถเกิดประสิทธิภาพในการลดฟันผุได้ซึ่งถือเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการใช้โพรไบโอติกส์ในการป้องกันฟันผุในปัจจุบัน

จากการวิจัยในครั้งนี้ตลอด 6 เดือน ไม่พบผลข้างเคียงและภาวะแทรกซ้อนจากการรับประทานนมผสมโพรไบโอติกส์ ซึ่งข้อมูลในอดีตพบการรายงานการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือดและการติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจอักเสบได้แต่น้อยมากและเป็นการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวที่มีผลต่อภูมิต้านทานของร่างกาย ในกรณีของผู้ที่มีร่างกายปกติไม่มีรายงานผลข้างเคียงแต่อย่างใด[21]

สรุป

การรับประทานนมผสมโพรไบโอติกส์อย่างต่อเนื่องติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 6 เดือน สามารถให้ผลในการลดการเกิดรอยโรคฟันผุใหม่ได้ในกลุ่มอาสาสมัครอายุ 5-6 ขวบ

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 8 ประเทศไทย พ.ศ. 2560.กรุงเทพมหานครฯ; บริษัทสามเจริญพาณิชย์ (กรุงเทพ) จำกัด; 2560 : 19, 22, 39.
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Canada: Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London; 2002.
3. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, et al Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. Caries Res 2001;35(6):412-20.
4. Juneja A, Kakade A.. Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary mutans streptococci levels. J Clin Pediatr Den 2012 Fall;37(1):9-14.
5. 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.

6. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. Arch Oral Bio 1979;24(2):101-12.
7. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res 2004;38(3):182-91.
8. Kuramitsu HK. Virulence properties of oral bacteria: impact of molecular biology. Curr Issues Mol Biol 2001;3(2):35-6.
9. Banas JA. Virulence properties of streptococcus mutans. Front Biosci. 2004 May 1;9:1267-77.
10. Meurman JH. Probiotics: Do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci 2005;113(3):188-96.
11. Twetman S, Stecksén-Blicks C.Probiotics and oral health effects in children. Int J Paediatr Dent 2000;18(1):3-10.
12. Piwat S, Teanpaisan R, Thitasomakul S, Thearmontree A, Dahlén G. Lactobacillus species and genotypes associated with dental caries in Thai preschool children. Mol Oral Microbiol 2010;25(2):157-64.
13. Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S, Vistoso A, Marró ML, Sánchez J, et al. Probiotic Compared with Standard Milk for High-caries Children: A Cluster Randomized Trial. J Dent Res 2016;95(4):402-7.
14. Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. Acta Odontol Scand 2011;69(6):321-7.
15. Hasslöf P, West CE, Videhult FK, Brandelius C, Stecksén-Blicks C. Early intervention with probiotic Lactobacillus paracasei F19 has no long-term effect on caries experience. Caries Res 2013;47(6):559-65.
16. Stensson M, Koch G, Coric S, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Birkhed D, et al. Oral administration of Lactobacillus reuteri during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. Caries Res 2014;48(2):111-7.
17. Wattanarat O, Makeudom A, Sastraruji T, Piwat S, Tianviwat S, Teanpaisan R, et al. Enhancement of salivary human neutrophil peptide 1–3 levels by probiotic supplementation. BMC Oral Health 2015;15(19):1-11.
18. Gugnani N, Pandit IK, Srivastava N, Gupta M, Sharma M. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept. Int J Clin Pediatr Dent 2011;4(2): 93-100.
19. ElSalhy M, Alsumait A, Lai H, Almerich-Silla JM, Piovesan C, Flores-Mir C, et al. Identifying a Potential Summary Measure for Overall Caries Level in Children Examined with the International Caries Detection and Assessment System. Caries Res 2018;51(6): 568-75.
20. Rungsri P, Akkarachaneeyakorn N, Wongsuwanlert M, Piwat S, Nantarakchaikul P, Teanpaisan R. Effect of fermented milk containing Lactobacillus rhamnosus SD11 on oral microbiota of healthy volunteers: A randomized clinical trial. J Dairy Sci 2017;100(10):7780-7.
21. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. Clin Infect Dis 2003;36(6):775-80.