

## ผลของโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสเฟอเมนตุมเอสดี 11

### ต่อเชื้อมิวแทนส์ สเตรปโตคอคไคและเชื้อราในอาสาสมัคร

#### Effect of Yogurt Contained Probiotic *Lactobacillus fermentum* SD11

#### on Mutans Streptococci and Yeasts in Human Volunteers

ปาริมา นันทรักษ์ชัยกุล (Parima Nantarakchaikul)\* สุพัชรินทร์ พิวัฒน์ (Supatcharin Piwat)\*\*

นุชนรี อัครชนียากร (Nuchnaree Akkarachaneeyakorn)\*\*\* รวี เกียรติไพศาล (Rawee Teanpaisan)\*\*\*\*

#### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโยเกิร์ตที่มี *Lactobacillus fermentum* SD11 ต่อเชื้อฟันผุ mutans streptococci (MS) และเชื้อราในน้ำลาย โดยทำการศึกษาในอาสาสมัคร 43 คน (อายุเฉลี่ย 21.86 ± 0.83 ปี) ถูกสุ่มเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มศึกษาได้รับโยเกิร์ตที่มี *L. fermentum* SD11 และกลุ่มควบคุมได้รับโยเกิร์ตที่มี *L. bulgaricus* โดยทั้งสองกลุ่มได้รับโยเกิร์ตวันละ 1 ครั้งทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายสำหรับเพาะเลี้ยง MS, lactobacilli และ เชื้อราก่อนการได้รับโยเกิร์ตและหลังได้รับโยเกิร์ตครบ 1 เดือน ผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มศึกษาพบปริมาณ MS และเชื้อราลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นและพบ MS ในกลุ่มศึกษาน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้พบการเพิ่มขึ้นของ lactobacilli อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมและไม่พบว่ามีผลข้างเคียงใดๆ บ่งชี้ว่าโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 น่าจะมีประโยชน์ในการใช้ป้องกันโรคในช่องปาก

#### ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of yogurt contained *Lactobacillus fermentum* SD11 on salivary mutans streptococci (MS) and yeasts. Total 43 volunteers (mean aged 21.86±0.83 years) were recruited and randomly assigned to either study or control group. Study group received yogurt contained *L. fermentum* SD11 and control group received yogurt contained *L. bulgaricus* once daily for 1 month. MS, lactobacilli and yeasts were counted using quantitative differential culture at baseline and after administration period. Results showed statistically significant reduction of MS and yeasts counts were found in the study group compared to baseline, and MS in the study group was significantly lower than the control group. A significant increase of lactobacilli was observed in both study and control groups. No negative side effect was found in both groups. It indicated that *L. fermentum* SD11 may be a useful probiotic for prevention of oral diseases.

**คำสำคัญ:** โพรไบโอติก แลคโตบาซิลลัสเฟอเมนตุมเอสดี 11 มิวแทนส์ สเตรปโตคอคไค

**Keywords:** Probiotic, *Lactobacillus fermentum* SD11, Mutans streptococci

\* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

\*\* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

\*\*\* อาจารย์ ภาควิชาทันตกรรม ภาควิชาป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

\*\*\*\* ศาสตราจารย์ ภาควิชาโอบุรุษวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## บทนำ

โรคฟันผุเป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญโรคหนึ่งของประเทศไทย โรคฟันผุเกิดจากการเสียดุลระหว่างปัจจัยก่อโรครกับปัจจัยป้องกันโรค ซึ่งปัจจัยสำคัญหนึ่งในการทำให้เกิดโรคคือ เชื้อก่อโรคฟันผุ จึงเกิดแนวคิดในการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคฟันผุ ซึ่งได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน

โพรไบโอติก (Probiotic) คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับในปริมาณพอเหมาะจะส่งผลให้เกิดผลดีต่อร่างกาย (FAO/WHO, 2002) การศึกษาในปัจจุบันเห็นประโยชน์ในการใช้โพรไบโอติกในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆมากมาย เช่น โรคระบบทางเดินอาหาร (Schultz, Sartor, 2002) โรคระบบทางเดินหายใจ (Singh et al., 2010) การติดเชื้อราในช่องคลอด (Strus et al., 2005) เป็นต้น ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษานำโพรไบโอติกมาใช้ประโยชน์ในช่องปากเช่น การป้องกันโรคฟันผุ การป้องกันและรักษาการติดเชื้อราในช่องปาก โรคปริทันต์ และภาวะกลิ่นปาก (Stamatova, Meurman, 2005; Haukioja, 2010)

โดยจากการศึกษาเชื้อโพรไบโอติก *L. reuteri* และ *L. rhamnosus* GG สามารถลด mutans streptococci ในช่องปากได้ (Nase et al., 2001; Nikawa et al., 2004; Caglar et al., 2006) แต่เชื้อโพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG และ *L. reuteri* สามารถอยู่ในช่องปากเพียงชั่วคราวเท่านั้น หากต้องการหวังผลให้เชื้อนี้มีผลกระทบอยู่ในช่องปากจำเป็นต้องทานเป็นประจำ อาจเนื่องจากเชื่อดังกล่าวไม่ได้มีแหล่งกำเนิดจากช่องปาก จึงไม่สามารถเกาะติดเยื่อเมือกในช่องปากและสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ดี ทำให้ไม่สามารถดำรงอยู่นาน (Yil-Knuuttilla et al., 2006; Caglar et al., 2009)

จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในช่องปาก โดยได้มีการนำเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มของ normal flora ที่แยกมาจากช่อง

ปากของเด็กที่ปราศจากฟันผุ (Piwat et al., 2010) นำมาผสมในนม ให้อาสาสมัครทานเป็นเวลา 1 เดือนพบว่าสามารถลด mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญและความสามารถในการลดเชื้อสามารถคงอยู่ถึง 4 สัปดาห์หลังหยุดทานนม รวมทั้งยังสามารถตรวจพบ *L. paracasei* SD1 ในช่องปาก 4 สัปดาห์หลังหยุดทานนมได้ นอกจากนี้พบว่าไม่พบผลข้างเคียงเช่น ท้องอืด ท้องเสีย อาเจียน ปวดท้อง และอาการอื่นๆ หลังจากได้รับนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 (Teapaisan et al., 2014; Ritthagol et al., 2014)

*L. fermentum* SD11 เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ที่นำมาจากช่องปากของเด็กที่ปราศจากฟันผุเช่นเดียวกับ *L. paracasei* SD1 จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบว่า *L. fermentum* SD11 มีความสามารถเป็นโพรไบโอติกที่ใช้ป้องกันการเกิดโรคในช่องปากได้ ดังต่อไปนี้ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ผลิตรกรดได้น้อยกว่าแบคทีเรียในสายพันธุ์อื่นๆ (Teapaisan et al., 2011; Piwat et al., 2012) และจากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์พบว่า *L. fermentum* SD11 สามารถสร้างสารแบคทีริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อ *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Candida albicans*, *P. gingivalis*, และ *A. actinomycetemcomitans* นอกจากนี้เชื้อ *L. fermentum* SD11 มีความสามารถในการยึดติดโดยสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ดี

จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ในการนำ *L. fermentum* SD11 มาศึกษาในอาสาสมัครเพื่อประเมินผลในการยับยั้ง mutans streptococci และเชื้อราในช่องปาก ซึ่งการศึกษานี้เป็นการศึกษาทางคลินิกในขั้นแรก (phase I clinical trial) ของสายพันธุ์โพรไบโอติก ชนิดใหม่ โดยเลือกใช้รูปแบบผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโดยทำการเปรียบเทียบกับเชื้อ *L. bulgaricus* ซึ่งเป็นเชื้อโพรไบโอติกที่พบว่ามีประโยชน์ต่อระบบ

ทางเดินอาหารและนิยมใช้ในการผลิตโยเกิร์ตตาม  
ท้องตลาดทั่วไป

### วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบผลของโยเกิร์ตที่มีส่วนประกอบ  
ของโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 ต่อ mutans  
streptococci และเชื้อราในช่องปากอาสาสมัคร และ  
ประเมินผลข้างเคียงจากการได้รับ โยเกิร์ตที่มี  
โพรไบโอติก *L. fermentum* SD11

### วิธีการวิจัย

การศึกษานี้ได้ออกแบบการวิจัยเป็น double  
blinded randomized placebo-controlled study design  
โดยศึกษาในกลุ่มอาสาสมัคร

#### การเตรียมโยเกิร์ต

กลุ่มศึกษาจะได้รับ โยเกิร์ตที่เตรียมจากเชื้อ  
*L. fermentum* SD11 กลุ่มควบคุมได้รับ โยเกิร์ตที่เตรียม  
จากเชื้อ *L. bulgaricus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต  
โดยทั่วไปในท้องตลาด โดยโยเกิร์ตทั้งสองชนิดมี  
ขั้นตอนเตรียมดังนี้

การเตรียมหัวเชื้อ โดยนำเชื้อแบคทีเรีย  
*L. bulgaricus* และ *L. fermentum* SD11 เพาะเลี้ยงบน  
อาหาร MRS agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ที่  
สภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้น  
เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่อุณหภูมิ 37 องศา  
เซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง  
นำมาปั่นล้างด้วย NaCl 0.85% ที่ความเร็ว 5000 รอบ  
ต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ทำการควบคุมอุณหภูมิที่ 4  
องศาเซลเซียส ทำการเจือจางด้วย 0.85% ให้มีจำนวน  
เชื้อ *L. bulgaricus* ประมาณ  $3 \times 10^{40}$  CFU/ml และ  
จำนวนเชื้อ *L. fermentum* SD11  $3.2 \times 10^{50}$  CFU/ml และ  
นำสารละลายเชื้อ *Lactobacillus* ที่ได้นี้ไปใช้ในการ  
เตรียมโยเกิร์ตต่อไป

การเตรียมโยเกิร์ต โดยนำนมสดพาสเจอร์  
ไรส์มาบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15  
นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อ โยเกิร์ตดังต่อไปนี้ โยเกิร์ต

ควบคุมจะเติมหัวเชื้อ *L. bulgaricus* 0.5% (v/v) ใน  
ปริมาณ 50 มิลลิลิตรลงในนม 100 มิลลิลิตร ส่วน  
โยเกิร์ตศึกษาจะเติมหัวเชื้อ *L. fermentum* SD11 0.05%  
(v/v) ในปริมาณ 50 มิลลิลิตรลงในนม 100 มิลลิลิตร  
จากนั้นโยเกิร์ตทั้งสองจะได้รับการบ่มที่อุณหภูมิ 45  
องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนกว่าค่า pH  
ในโยเกิร์ตเท่ากับ 4.5 โดยควบคุมให้มีปริมาณเชื้อของ  
โยเกิร์ตควบคุมและโยเกิร์ตศึกษาให้มีเชื้ออยู่ที่มากกว่า  
 $10^7$  CFU/ml และหลังจากนั้นเก็บโยเกิร์ตที่ได้ในตู้เย็น  
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้ผ่านการพิจารณาจาก  
คณะกรรมการจริยธรรมของคณะทันตแพทยศาสตร์  
มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ก่อนเริ่มทำงานวิจัย  
(ใบรับรองการตรวจสอบจริยธรรม EC5708-28-L-HR)

กลุ่มตัวอย่างเป็นอาสาสมัครเข้าร่วม  
โครงการทั้งหมด 43 คน อายุระหว่าง 20-21 ปี โดยมี  
เกณฑ์คัดออกกลุ่มตัวอย่างดังนี้ มีโรคประจำตัวที่มีผล  
ต่อภูมิคุ้มกัน มีประวัติการแพ้นมวัวและหรือน้ำตาล  
แลคโตส พบจำนวนฟันผุในช่องปากมากกว่า 2 ซี่  
สูบบุหรี่ มีประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพมาก่อนเข้าร่วม  
โครงการในเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ มีประวัติทาน  
ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกหรือไซลิทอลเป็นประจำและ  
ติดเครื่องมือจัดฟันแบบติดแน่น

### วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ได้ออกแบบการวิจัยเป็น double  
blinded randomized placebo-controlled study design  
โดยกลุ่มตัวอย่างจะถูกสุ่มเข้ากลุ่มศึกษาหรือ  
กลุ่มควบคุม

กลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมจะได้รับโยเกิร์ต  
ที่ทางคณะผู้วิจัยได้จัดเตรียมไว้ให้ ปริมาณ  
100 มิลลิลิตร/วัน โดยทานทุกวัน วันละ 1 ครั้ง  
โดยคณะผู้วิจัยจะนำไปให้แก่ผู้เข้าร่วมการศึกษาทาน  
ในตอนเช้าของทุกวันและสังเกตว่าผู้เข้าร่วมการศึกษา  
ได้รับประทานจนหมด รวมระยะเวลารับประทาน  
ทั้งหมด 1 เดือน โดยโยเกิร์ตทั้งสองชนิดจะบรรจุใน

ขวดแก้วที่มีฉลากระบุชื่อผู้เข้าร่วมการศึกษา เพื่อให้  
ผู้เข้าร่วมการศึกษาไม่ทราบว่าตนเองอยู่กลุ่มใด

ในระหว่างการศึกษาผู้เข้าร่วมการศึกษาต้อง  
ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ น้ำยาบ้วนปากที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ  
ผลิตภัณฑ์โฟรไบโอติกชนิดอื่นๆ ผลิตภัณฑ์ไซลิทอล  
และการรักษาทางทันตกรรม

คณะผู้วิจัยจะติดตามผลข้างเคียงจากการ  
รับประทานโยเกิร์ตจากผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกวัน  
โดยการสอบถามอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง  
ท้องเสีย ท้องผูก และอาการอื่นๆ ทำการบันทึกอาการ  
ข้างเคียงในแบบบันทึกทุกวัน หากมีอาการที่สงสัยว่า  
เกิดจากโยเกิร์ตที่คณะผู้วิจัยจะให้หยุดรับประทาน โย  
เกิร์ต ตรวจสอบและทำการแก้ไขปัญหามา

#### การประเมินปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

การเก็บตัวอย่างน้ำลาย 2 ช่วงคือ ค่าเริ่มต้น  
ก่อนได้รับโยเกิร์ตและวัดถัดไปหลังได้รับโยเกิร์ตครบ  
1 เดือน ซึ่งตัวอย่างน้ำลายจะถูกเก็บโดยวิธี oral rinse  
method คือบ้วนเก็บด้วยน้ำเกลือ นำตัวอย่างที่เก็บได้  
ไปปั่นเก็บตะกอนและนำมาทำ serial dilution จากนั้น  
นำมาเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารคัดเลือกชนิดแบคทีเรียซึ่ง  
ได้แก่ Mitis salivarius bacitracin agar สำหรับเชื้อ  
mutans streptococci MRS agar สำหรับเชื้อ  
lactobacilli และ Sabouraud Dextros agar สำหรับเชื้อ  
รา ทำการเลี้ยงเชื้อ mutans streptococci ใน candle jar  
เชื้อ lactobacilli ใน anaerobic chamber และเชื้อราใน  
aerobic chamber โดยทั้งหมดทำการเพาะเลี้ยงที่  
อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โคลโลนีของเชื้อ  
ต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกจำแนกตามรูปร่างภายใต้  
กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่าและนับจำนวน  
โคโลนี โดยค่าที่ออกมาจะเป็น CFU/ml

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ข้อมูลโดยทั่วไป  
ของผู้เข้าร่วมการศึกษา ผลข้างเคียงจากโยเกิร์ต  
เปรียบเทียบความแตกต่างของเพชรระหว่างกลุ่มศึกษา  
และกลุ่มควบคุม โดยใช้สถิติ Chi-square test และจาก  
ทดสอบการกระจายข้อมูลของปริมาณ mutans

streptococci lactobacilli และเชื้อราด้วย Shapiro-wilk  
test พบข้อมูลมีการกระจายไม่ปกติ จึงทำการ  
เปรียบเทียบความแตกต่างปริมาณ mutans streptococci  
lactobacilli และเชื้อราระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่ม  
ควบคุม โดยใช้สถิติ Mann-whitney U-test ส่วนการ  
เปรียบเทียบความแตกต่างปริมาณ mutans streptococci  
lactobacilli และเชื้อราระหว่างค่าเริ่มต้นก่อนได้รับ  
โยเกิร์ตและหลังได้รับโยเกิร์ตโดยใช้สถิติ Wilcoxon  
signed rank test

#### ผลการวิจัย

เมื่อสิ้นสุดการวิจัยมีอาสาสมัครทั้งหมด  
จำนวน 43 แบ่งเป็นกลุ่มศึกษา 21 คน กลุ่มควบคุม 22  
คน แบ่งเป็นเพศชาย 12 คนและเพศหญิง 31 คน มี  
ค่าเฉลี่ยอายุ  $21.86 \pm 0.83$  ปี (ตารางที่ 1)

นอกจากนี้ ปริมาณ mutans streptococci  
lactobacilli และเชื้อราที่ค่าเริ่มต้นระหว่างกลุ่มศึกษา  
และกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง  
สถิติเช่นกัน (ตารางที่ 2)

หลังได้รับโยเกิร์ตครบ 1 เดือนพบว่าในกลุ่ม  
ศึกษามีการลดลงของปริมาณ mutans streptococci  
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากค่า  $2.80 \pm 1.41$   
 $\log_{10}$ CFU/ml เป็นค่า  $0.78 \pm 1.19$   $\log_{10}$ CFU/ml และพบ  
การลดลงของปริมาณเชื้อราจากค่า  $1.81 \pm 1.81$   
 $\log_{10}$ CFU/ml เป็นค่า  $0.54 \pm 1.00$   $\log_{10}$ CFU/ml ในขณะที่  
ในกลุ่มควบคุม พบปริมาณ mutans streptococci และ  
เชื้อราไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่า  
เริ่มต้นและหลังได้รับโยเกิร์ต

นอกจากนี้ยังพบว่าหลังได้รับโยเกิร์ตครบ 1 เดือนพบปริมาณ mutans streptococci ในกลุ่มศึกษา ( $0.78 \pm 1.19 \log_{10} \text{CFU/ml}$ ) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ( $3.48 \pm 1.58 \log_{10} \text{CFU/ml}$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเชื้อราไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 1** แสดงจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยแบ่งตามเพศ ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุ ฟันผุอุดถอน และความเป็นกรดเป็นเบสของน้ำลายที่ค่าเริ่มต้น

ชนิดตัวแปร	ทั้งหมด	กลุ่มศึกษา	กลุ่มควบคุม	P-value
เพศ <sup>†</sup> :				
- เพศชาย (คน)	12	6	6	0.924
- เพศหญิง (คน)	31	15	16	
อายุ <sup>‡</sup> (ปี)	$21.86 \pm 0.83$	$21.81 \pm 0.81$	$21.91 \pm 0.87$	0.688
ฟันผุอุดถอน <sup>‡</sup> (ซี่)	$3.09 \pm 3.08$	$3.05 \pm 3.20$	$3.14 \pm 3.04$	0.844
ฟันผุอุดถอน <sup>‡</sup> (ด้าน)	$4.56 \pm 5.12$	$4.48 \pm 4.80$	$4.64 \pm 5.52$	1.000
ความเป็นกรดเบสของน้ำลาย <sup>‡</sup>	$7.08 \pm 0.43$	$6.98 \pm 0.40$	$7.18 \pm 0.45$	0.144

<sup>†</sup> สถิติการทดสอบ Chi-square test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>‡</sup> สถิติการทดสอบ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ lactobacilli อย่างมีนัยสำคัญในช่วงหลังได้รับโยเกิร์ตครบ 1 เดือนเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นทั้งในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างปริมาณ lactobacilli ระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมในช่วงหลังได้รับโยเกิร์ตครบ 1 เดือน (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณ mutans streptococci lactobacilli และเชื้อราที่ค่าเริ่มต้นและหลังได้รับโยเกิร์ต ครบ 1 เดือน

ชนิดเชื้อ	ช่วงเวลา	กลุ่มศึกษา	กลุ่มควบคุม	P-value <sup>†</sup>
Mutans streptococci ( $\log_{10} \text{CFU/ml}$ )	ค่าเริ่มต้น	$2.80 \pm 1.41$	$3.05 \pm 1.62$	0.503
	หลังได้รับโยเกิร์ต	$0.78 \pm 1.19$	$3.48 \pm 1.58$	0.000*
	P-value <sup>‡</sup>	0.001*	0.297	
Lactobacilli ( $\log_{10} \text{CFU/ml}$ )	ค่าเริ่มต้น	$6.55 \pm 1.30$	$5.93 \pm 0.95$	0.313
	หลังได้รับโยเกิร์ต	$7.24 \pm 1.34$	$6.75 \pm 1.03$	0.087
	P-value <sup>‡</sup>	0.002*	0.010*	
Yeast ( $\log_{10} \text{CFU/ml}$ )	ค่าเริ่มต้น	$1.81 \pm 1.81$	$1.06 \pm 1.26$	0.151
	หลังได้รับโยเกิร์ต	$0.54 \pm 1.00$	$0.21 \pm 1.01$	0.948
	P-value <sup>‡</sup>	0.013*	0.148	

<sup>†</sup> เปรียบเทียบกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม ด้วยสถิติการทดสอบ

Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>‡</sup> เปรียบเทียบค่าเริ่มต้นและหลังการได้รับโยเกิร์ต ด้วยสถิติทดสอบ

Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

จากการสำรวจอาการข้างเคียงจากการรับประทานโยเกิร์ต ไม่พบผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมมีอาการข้างเคียงใด ๆ หลังได้รับโยเกิร์ตตลอดการศึกษา

## บทวิจารณ์

*L. fermentum* SD11 เป็นเชื้อโพรไบโอติกที่จำแนกจากช่องปากเด็กปราศจากฟันผุ (Pawat et al., 2010) ซึ่งในการศึกษานี้พบการลดลงของปริมาณ mutans streptococci และเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังได้รับโยเกิร์ตโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Teanpaisan et al. (2011) ซึ่งพบว่า *L. fermentum* SD11 สามารถลดเชื้อ *S. mutans* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการศึกษาทาง

ห้องปฏิบัติการ (in vitro) นอกจากนี้ยังให้ผลสอดคล้องกับผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ซึ่งเป็นเชื้อที่จำแนกจากช่องปากเด็กปราศจากฟันผุเช่นเดียวกัน ซึ่งพบการลดลงปริมาณ mutans streptococci ในช่องปากเช่นกัน (Teapaisan et al., 2014; Ritthagol et al., 2014) ซึ่งผลดังกล่าวอาจเนื่องมาจากเชื้อโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 เป็นเชื้อโพรไบโอติกที่แยกจากช่องปากจึงมีคุณสมบัติในการยึดเกาะได้ดีจึงแข่งขันแย่งพื้นที่ในการยึดเกาะกับเชื้อก่อโรคได้ และอีกกลไกหนึ่งคือ *L. fermentum* SD11 สามารถผลิตสาร bacteriocin ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้าน mutans streptococci และเชื้อรา ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่ได้รับโยเกิร์ตที่มี *L. bulgaricus* ไม่พบผลการลดลงของ mutans streptococci ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Petti et al. (2008) ที่รายงาน ว่าโยเกิร์ตที่มี *Streptococcus thermophiles* และ *L. bulgaricus* มีประสิทธิภาพในการลด mutans streptococci

ในการศึกษาพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อ lactobacilli ทั้งในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม เนื่องมาจากทั้งสองกลุ่มได้รับโยเกิร์ตที่มีส่วนประกอบของเชื้อ lactobacilli เช่นเดียวกัน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อ lactobacilli แสดงถึงความสามารถในการ colonization ในช่องปาก แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ lactobacilli ระหว่างทั้งสองกลุ่ม อาจเนื่องมาจากในการศึกษานี้ติดตามผลหลังการได้รับโยเกิร์ตเป็นระยะที่สั้น จึงควรมีการศึกษาติดตามผลระยะยาวหลังหยุดทานโยเกิร์ตในอนาคต

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่น่าเชื่อโพรไบโอติกอื่น ๆ มาช่วยยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปากเช่น *L. reuteri* และ *L. rhamnosus* สามารถลดปริมาณ mutans streptococci ในช่องปากได้อย่างมีนัยสำคัญ (Nase et al., 2001; Nikawa et al., 2004; Caglar et al., 2006) และโพรไบโอติก *L. rhamnosus* (Hatakka et al., 2007) สามารถลดปริมาณเชื้อราในช่องปากได้ แต่เชื้อโพรไบโอติกดังกล่าวเป็นเชื้อที่จำแนกมาจากช่องท้อง

จึงมีการคงอยู่ในช่องปากไม่ดี (Yil-Knuuttila et al., 2006; Caglar et al., 2009) แต่จากการศึกษาการคงอยู่ของเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ซึ่งเป็นเชื้อที่จำแนกในช่องปากพบว่าสามารถตรวจพบเชื้อ *L. paracasei* SD1 ในช่องปากแม้จะหยุดทานนมที่มีเชื้อ *L. paracasei* SD1 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Teapaisan et al., 2014; Ritthagol et al., 2014) ซึ่งเชื้อโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 เป็นเชื้อที่จำแนกในช่องปากเช่นกับเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 จึงคาดว่าน่าจะมีความสามารถในการคงอยู่ในช่องปากได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

ซึ่งจากการศึกษานี้ไม่พบผลข้างเคียงและภาวะแทรกซ้อนจากการใช้โพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 ในระยะสั้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความปลอดภัยสำหรับการใช้ในคนในระยะยาวต่อไป

## บทสรุป

การได้รับโยเกิร์ตที่มีส่วนประกอบของเชื้อโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 ทุกวันเป็นเวลา 1 เดือนสามารถลดปริมาณ mutans streptococci และเชื้อราในช่องปากได้ ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าโพรไบโอติก *L. fermentum* SD11 น่าจะมีประโยชน์ในการใช้ป้องกันโรคในช่องปาก

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนวิจัยจากหน่วยบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สถาบันวิจัยโรคที่พบบ่อยในช่องปากและวิทยาการระบาด และโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนา มหาวิทยาลัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- 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.
- Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent Br Paedodontic Soc Int Assoc Dent Child* 2009; 19(5): 377–81.
- Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Guideline for the evaluation of probiotic in food 2002.
- Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2007; 86(2): 125–30.
- Haukioja A. Probiotics and Oral Health. *Eur J Dent* 2010; 4(3): 348–55.
- Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005; 113(3): 188–96.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Piwat S, Teanpaisan R, Dahlén G, Thitasomakul S, Douglas CW. Acid production and growth by oral *Lactobacillus* species in vitro *J Investig Clin Dent* 2012; 3(1): 56-61.
- 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* 2014 May; 51(3): 257–63.
- Schultz M, Sartor RB. Probiotics and inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 2000 ; 95(1, Supplement 1): S19–21.
- Singh, M. and R. Ranjan Das. Probiotics for allergic respiratory diseases putting it into perspective. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 368-76.



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

Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol* 2011; 53(4): 452-9.

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.

Yli-Knuutila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(2): 129–31.