ผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อการเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปาก

EFFECT OF VARIOUS PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULAS ON THE GROWTH OF ORAL PATHOGENS

ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2568

ผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อการเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปาก

ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2568
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

EFFECT OF VARIOUS PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULAS ON THE GROWTH OF ORAL PATHOGENS

NUTTAPOL SAREECHETTAPONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Master of Science Program in Oral and Maxillofacial Sciences)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2025

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อการเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปาก

ของ

ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สรสัณห์ รังสิยานนท์)

..... ประธาน
(ศาสตราจารย์ ดร.สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.มาลัย ทวีโชติภัทร์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณวรรณ หล้าอุบล)

ชื่อเรื่อง	ผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อการเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปาก
ผู้วิจัย	ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2568
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สรสัณห์ รังสิยานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์

น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกมีฤทธิ์ลดการอักเสบในช่องปาก ด้วยเหตุนี้ทำให้มีการพัฒนาน้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่ที่มีฤทธิ์ลด TNF-α ร่วมกับแคนนาบิไดออล (Cannabidiol) และกาวผึ้ง (Propolis) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อในช่องปาก จึงเป็นที่มาของวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกสูตรต่าง ๆ ต่อปริมาณเชื้อก่อโรคในช่องปาก โดยการวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่ทำการทดสอบน้ำยาบ้วนปาก 4 สูตร ได้แก่ (1) น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% (2) น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% (3) น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และกาวผึ้ง 5% และ (4) น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% และกาวผึ้ง 5% โดยมีการใช้น้ำยาคลอร์เฮกซิดีนเป็นตัวควบคุมบวก และสารละลายน้ำเกลือ 0.9% เป็นตัวควบคุมลบ ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 และ *Streptococcus mutans* ATCC 27175 ข้อมูลเชิงปริมาณถูกรวบรวมจากการนับจำนวนโคโลนี (CFU/mL) หลังการทดลอง วิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและใช้การทดสอบเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างหลายกลุ่ม โดยในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายปกติใช้การวิเคราะห์ One-way ANOVA และในกรณีที่ข้อมูลไม่เป็นปกติใช้การทดสอบ Kruskal–Wallis ($p<0.05$) ผลการศึกษาพบว่าน้ำยาบ้วนปากทุกสูตรสามารถยับยั้งการเจริญของจุลชีพก่อโรคทั้งสองชนิดได้ในระดับที่แตกต่างกัน โดยมีผลชัดเจนต่อ *Streptococcus mutans* มากกว่า *Candida albicans* โดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบ Kruskal–Wallis พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการยับยั้งจุลชีพทั้งสองชนิด ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามผลการเปรียบเทียบพหุคูณของดันน์ไม่สามารถหาข้อสรุปใดๆ ได้ แต่สถิติเชิงพรรณนาบ่งชี้ว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% และกาวผึ้ง 5% มีแนวโน้มผลยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามน้ำยาบ้วนปากสูตรนี้ยังต้องผ่านการศึกษาทางคลินิกต่อไปก่อนนำไปใช้ในผู้ป่วยจริง

คำสำคัญ : โพรไบโอติก, น้ำยาบ้วนปาก, เชื้อในช่องปาก, กาวผึ้ง, แคนนาบิไดออล

Title	EFFECT OF VARIOUS PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULAS ON THE GROWTH OF ORAL PATHOGENS
Author	NUTTAPOL SAREECHETTAPONG
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2025
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanonte
Co Advisor	Associate Professor Dr. Malai Taweechotipatr

Probiotic supernatants possess anti-inflammatory properties in the oral cavity. Based on this, a new mouthwash formulation was developed to reduce TNF-α levels, which was combined with cannabidiol and propolis. However, the antimicrobial effects of these formulations have not yet been investigated. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of various probiotic mouthwash formulations on the quantity of oral pathogenic microorganisms. This laboratory-based study tested four mouthwash formulations: (1) 10% probiotic supernatant, (2) 10% probiotic supernatant with 1% cannabidiol, (3) 10% probiotic supernatant with 5% propolis, and (4) 10% probiotic supernatant with 1% cannabidiol and 5% propolis. Chlorhexidine was used as a positive control, and 0.9% saline solution was used as a negative control. The inhibitory effects were assessed against *Candida albicans* ATCC 10231 and *Streptococcus mutans* ATCC 27175. Quantitative data were collected from colony counts (CFU/mL) after treatment. Descriptive statistics were applied, and differences among groups were analyzed using a One-way ANOVA or Kruskal–Wallis test for non-normal data ($p<0.05$). The results showed that all mouthwash formulations inhibited both pathogenic microorganisms to varying degrees, with a stronger effect observed against *Streptococcus mutans* than *Candida albicans*.The Kruskal–Wallis analysis revealed statistically significant differences in inhibitory effects ($p<0.05$). However, Dunn's multiple comparison test found no clear overall pattern. Descriptive statistics indicated that the formulation containing 10% probiotic supernatant, 1% cannabidiol, and 5% propolis exhibited the greatest inhibitory potential against *Streptococcus mutans*. However, this mouthwash formulation still requires further clinical investigation before it can be applied in patients.

Keyword : Probiotic, Mouthwash, Oral Bacteria, Propolis, Cannabidiol

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้คงมิอาจประสบความสำเร็จและสมบูรณ์ได้ หากไร้ซึ่งการสนับสนุนจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ทพ. สรสัณห์ รังสิยานนท์ และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ. ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์ ผู้ออกความคิดเห็น แนะนำแนวทางทางความคิด รวมถึงการจัดหาสถานที่, อุปกรณ์, ทุนการวิจัยและบุคลากรที่จำเป็นต่อการดำเนินการในทุกๆ ขั้นตอนตั้งแต่เริ่มต้นตลอดโดยเฉพาะยามพบเจอกับปัญหาที่ข้าพเจ้าไม่อาจแก้ไขด้วยตนเองได้มาจนถึงปัจจุบันที่ปริญญานิพนธ์ในหัวข้อเรื่องผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อการเติบโตของเชื้อก่อโรคในช่องปากชิ้นนี้สำเร็จออกมาเป็นรูปเล่มที่สมบูรณ์ ขอขอบคุณ ศ. ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ในฐานะประธานการสอบปริญญานิพนธ์ และ รศ. ดร. อรุณวรรณ หลำอุบล ในฐานะกรรมการการสอบปริญญานิพนธ์ที่สละเวลาอันมีค่ามาร่วมการสอบปริญญานิพนธ์ในครั้งนี้ อีกหนึ่งบุคคลสำคัญที่ข้าพเจ้าจะไม่กล่าวถึงไม่ได้ คือ นส. ฉันทนาภา ฉันทรางกูร นิสิตปริญญาเอกร่วมห้องปฏิบัติการที่ศูนย์เพื่อความเป็นเลิศทางวิจัยด้านโพรไบโอติก ที่แนะนำและให้ความช่วยเหลือขณะที่ข้าพเจ้าไปทำการศึกษายังห้องปฏิบัติการแห่งนั้นเป็นอย่างดีเสมอมา สุดท้ายนี้ขอขอบคุณทุกแรงสนับสนุนจากเพื่อนๆ ในรุ่น, รุ่นพี่รุ่นน้อง รวมไปถึงอาจารย์ในหลักสูตรทุกท่านทั้งทางวิชาการและทางจิตใจที่ ขอขอบคุณทุกๆ ท่านจากใจจริงครับ

ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 4

ตัวแปรศึกษา 4

กรอบแนวคิดงานวิจัย 5

สมมุติฐานในการวิจัย 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

จุลินทรีย์ และช่องปาก 6

โรคติดเชื้อในช่องปาก 7

ไบโอฟิล์มในช่องปากและการก่อโรค 8

โพรไบโอติก 9

ทันตกรรมและการอักเสบ 12

แคนนาบิไดออล (Cannabidiol : CBD) 15

กาวผึ้ง (Propolis) 19

น้ำยาบ้วนปาก 22

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....26
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 26
วัสดุและอุปกรณ์.....26
ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 30
การเก็บข้อมูล 31
การวิเคราะห์ข้อมูล.....31
บทที่ 4 ผลการวิจัย 33
กราฟเจริญเติบโตมาตรฐาน.....33
ค่าความเป็นกรด-ด่าง 35
การทดสอบการสัมผัสโดยตรง.....35
การทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Candida albicans*.....36
การทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Streptococcus mutans*.....37
การทดสอบตามช่วงเวลา.....38
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย 40
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....40
ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง.....41
ข้อพิจารณาด้านชีวภาพ 41
ความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาบ้วนปาก.....45
ข้อเสนอแนะต่อการศึกษาในอนาคต.....46
สรุปผลการวิจัย.....47
บรรณานุกรม 48
ภาคผนวก.....55

ข้อมูลกราฟการเจริญเติบโตมาตรฐาน.....56
ข้อมูลการทดลองการสัมผัสโดยตรง.....57
ข้อมูลการทดสอบตามช่วงเวลา.....58
ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติการทดสอบการสัมผัสโดยตรง.....59
ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติการทดสอบตามช่วงเวลา.....61
ประวัติผู้เขียน.....62

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ส่วนประกอบและปริมาณของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษานี้ 29

ตาราง 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรของเชื้อทั้ง 2 ที่ช่วงเวลาต่างๆ 33

ตาราง 3 แสดงความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร..... 35

ตาราง 4 แสดงจำนวนโคโลนี (CFU/ml) หลังผ่านการทดสอบการสัมผัสโดยตรง 35

ตาราง 5 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* (CFU/ml) ของแต่ละช่วงเวลาที่ทดลอง 39

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดวิจัย 5

ภาพประกอบ 2 การส่งสัญญาณที่นำไปสู่การอักเสบ จาก TNF-α 14

ภาพประกอบ 3 แสดงคุณประโยชน์ของแคนนาบิไดออลในทางทันตกรรม 18

ภาพประกอบ 4 แสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสง-เวลา 34

ภาพประกอบ 5 แสดงกราฟแสดงจำนวนโคโลนี *Candida albicans* ATCC 10231 36

ภาพประกอบ 6 แสดงกราฟแสดงจำนวนโคโลนี *Streptococcus mutans* ATCC 27175 37

ภาพประกอบ 7 แสดงจำนวนปริมาณเชื้อหลังทำการทดสอบตามช่วงเวลา 39

ภาพประกอบ 8 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อปกติเทียบกับในน้ำยาบ้วนปาก 43

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เป็นหนึ่งในสาเหตุของโรคภัยต่างๆ ในมนุษย์มาอย่างช้านาน แต่อย่างไรก็ตามไม่ได้หมายความว่าจุลินทรีย์เหล่านี้ทั้งหมดทุกสายพันธุ์จะเป็นตัวปัญหาที่สร้างแต่โรคภัยให้กับเรา ตัวอย่างที่ใกล้ตัวก็คือในช่องปากของมนุษย์ที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ประมาณ 700 สปีชี่[1] ทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค ในสภาพแวดล้อมของช่องปากที่มีปัจจัยแวดล้อมเฉพาะตัวแตกต่างจากบริเวณอื่นๆ ในร่างกาย เกิดเป็นชุมชนจุลินทรีย์ขนาดเล็กที่ส่งผลซึ่งกันและกัน เรียกว่า ชุมชนจุลินทรีย์ในช่องปาก (Oral microbiota)

ในสภาพปกติ แม้จะประกอบด้วยเชื้อก่อโรค แต่ชุมชนของจุลินทรีย์เหล่านี้จะไม่ได้ทำให้เกิดการเจ็บป่วยใด แต่หากมีปัจจัยที่เข้ามารบกวนสภาพสมดุลของจุลินทรีย์เหล่านี้ อาจทำให้เกิดภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์ (Dysbiosis) ทำให้มีเชื้อก่อโรคในปริมาณที่มากขึ้น อันสามารถนำไปสู่กระบวนการการก่อโรคได้ เช่น โรคฟันผุ, โรคปริทันต์อักเสบ, โรคในระบบหลอดเลือดและหัวใจ และเบาหวาน เป็นต้น[2] แน่นอนว่าการจัดการกับปัญหาดังกล่าววิธีหนึ่งคือการใช้ยาปฏิชีวนะ แต่การใช้ยาเหล่านี้ก่อให้เกิดปัญหาอื่นตามมา เช่น เชื้อดื้อยา และความไม่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรคของยาอาจทำให้ต้องสูญเสียจุลินทรีย์ที่มีผลดีต่อร่างกายไปด้วย จึงมีการพัฒนาทางเลือกใหม่ในการต่อต้านการก่อโรคของเชื้อก่อโรคเหล่านี้โดยการแทนที่เชื้อก่อโรคด้วยเชื้อที่ไม่ก่อโรค หลักการนี้เรียกว่า จุลชีพบำบัด (Bacteriotherapy)[3] ซึ่งเชื้อไม่ก่อโรคเหล่านั้น เมื่อบริโภคเข้าไปในปริมาณที่เพียงพอจะส่งผลดีต่อสุขภาพ เชื้อเหล่านั้นจะเรียกว่า โพรไบโอติก (Probiotic)[4]

โพรไบโอติกสามารถนำมาใช้ทางการแพทย์ รวมถึงทางทันตกรรมได้ด้วยคุณสมบัติหลายอย่าง รวมถึงการต่อต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากโดยการรบกวนการสร้างไบโอฟิล์ม (Biofilm) ซึ่งเป็นกลไกสำคัญของการก่อโรคในช่องปาก ทั้งโรคฟันผุ และโรคปริทันต์ ด้วยการแย่งพื้นที่ยึดเกาะ และแย่งอาหารของเชื้อเหล่านั้น[5] นอกจากฤทธิ์ต่อเชื้อโรคแล้ว โพรไบโอติกยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ[6] ของแผลอันนำไปสู่อาการไม่พึงประสงค์หลังการผ่าตัดได้อีกด้วย

อาการไม่พึงประสงค์หลังการผ่าตัด เป็นปัญหาหนึ่งที่ยังคงไม่สามารถกำจัดได้อย่างหมดสิ้นแม้ว่าจะมีความก้าวหน้าในด้านการวิเคราะห์และจัดการความเจ็บปวด [7] เพราะความเจ็บปวดเหล่านั้นเกิดจากขั้นตอนการผ่าตัดที่จำเป็นต้องทำลายเนื้อเยื่อบางส่วนก่อนจะเข้าไปทำการรักษาต่างๆ การทำลายเนื้อเยื่อดังกล่าวกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของร่างกายเพื่อเข้าสู่กระบวนการการหายของแผล ซึ่งเป็นกระบวนการที่เป็นขั้นเป็นตอนต่อเนื่องกันเริ่มต้นจากขั้นแรกที่ เรียกว่า

ระยะเฉียบพลัน (Acute phase) [8] ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอนการห้ามเลือด (Hemostasis) , การอักเสบ (Inflammation), การแบ่งตัว (Proliferative phase) และ การจัดเรียงใหม่ (Remodeling) [9, 10] ในขั้นตอนดังกล่าวมีสารตัวหนึ่งที่ถูกปล่อยมาทันทีจากเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (Vascular endothelial cells), เคอราติโนไซต์ (Keratinocytes) และ ไฟโบรบลาส (Fibroblasts) เพื่อเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องมายังบริเวณแผลเพื่อเริ่มขั้นตอนการอักเสบ[11] สารดังกล่าวคือ Tumor necrosis factor - α (TNF-α)

TNF-α เป็นไซโตไคน์การอักเสบที่ตรวจพบได้ทันทีที่เกิดแผลขึ้น และเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงจุดสูงสุดในวันที่แรก[11] โดยสามารถกระตุ้นให้เกิดการอักเสบได้ทั้งทางตรง ได้แก่ การเพิ่มการแสดงออกยีน (Gene expression) ทำให้เกิดการสร้างสารสื่ออักเสบในบริเวณแผล และทางอ้อมโดยการกระตุ้นให้เซลล์ตายแบบเหนี่ยวนำ (Inducing cell death) ทำให้สารต่างๆ ในเซลล์ที่ตายไปแล้วเหนี่ยวนำให้เซลล์รอบข้างเพิ่มการแสดงออกยีนที่มีผลสร้างสารสื่ออักเสบ ส่งผลให้มีเซลล์อักเสบ และสารอักเสบในบริเวณแผลมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง เซลล์อักเสบและสารอักเสบดังกล่าวจะมีผลร่วมกันทำให้เกิดการอักเสบซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญเพื่อนำไปสู่การหายของแผลในที่สุด แต่ทั้งนี้ หากมีปริมาณ TNF-α สูงเกินไป จะส่งผลให้มีการอักเสบมากเกินขึ้นไปด้วย ซึ่งจะส่งผลไม่พึงประสงค์อย่างอื่นได้ เช่น การบวม หรือการนำไปสู่การอักเสบระยะเรื้อรัง (Chronic phase) [12] นอกจากนี้ TNF-α ยังสามารถกระตุ้นตัวรับความเจ็บปวด (Nociceptive receptor) ทำให้เกิดความเจ็บปวดได้โดยตรงได้อีกด้วย จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่า TNF- α เป็นสารตัวกลางสำคัญที่แม้มีบทบาทสำคัญในขั้นตอนการหายของแผล แต่ก็ส่งผลให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์หลายประการเช่นกัน ดังนั้นการลด TNF-α ภายหลังการผ่าตัดจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะสามารถลดอาการไม่พึงประสงค์ได้

มีการศึกษาและวิจัยฤทธิ์ต้านการอักเสบของโพรไบโอติกอย่างต่อเนื่อง เช่นงานวิจัยของ Boonyarut[13] ที่ทำการคัดกรองหาโพรไบโอติกที่มีฤทธิ์ยับยั้ง TNF-α ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบ จากกว่า 93 สายพันธุ์ จึงได้พบว่าน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการผลิต TNF-α ได้สูงที่สุด คือ *Lactobacillus paracasei* [13] ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตกรดแลคติกออกมาได้ด้วยการหมักและ สามารถทนกรดได้ดี ด้วยความที่มีคุณสมบัติยึดเกาะสูงและสามารถทนสภาพในช่องปากได้ จึงเกิดการแย่งจับพื้นผิวและลดการก่อโรคได้[5]

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำเลี้ยงเซลล์โพรไบโอติกชนิดดังกล่าวเพิ่มเติม Banjonjit [14] จึงทำการศึกษาทางคลินิกในประเด็นนี้ โดยพบว่าเมื่อทำการผ่าฟันคุดโดยใช้น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* แทนน้ำเกลือ พบว่า สามารถลดระดับ TNF-α และลด

อาการไม่พึงประสงค์ต่างๆ หลังหัตถการ ได้แก่ ความเจ็บปวด อาการบวม และการอ้าปากได้น้อย [14] แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านการอักเสบของโพรไบโอติกสอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ ที่มีการหาทางเลือกเป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ลดการอักเสบผ่านการลด TNF-α อื่นๆ นอกจากโพรไบโอติก ไม่ว่าจะเป็นกาวผึ้ง (Propolis)[15] และ แคนนาบิไดออล (Cannabidiol :CBD)[16] เป็นต้น

กาวผึ้ง หรืออาจเป็นที่รู้จักในชื่อ พรอพโพลิส เป็นสารจำพวกเรซินที่ผึ้งใช้สร้างรัง มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย, ไวรัส, เชื้อรา, ปรสิต และอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังยับยั้งการอักเสบได้ผ่านการยับยั้งการสร้างโพสตาแกรนดิน (Prostaglandins) ซึ่งด้วยคุณสมบัติมากมายดังกล่าวทำให้มีการใช้ในทางการแพทย์มาอย่างยาวนาน[15] ในทางทันตกรรมมีการทดลองนำกาวผึ้งใช้กับแผลหลังผ่าตัดภายในช่องปากในรูปของน้ำยาบ้วนปาก ให้ผลช่วยเสริมการสร้างเซลล์เยื่อบุ (Epithelization) และมีฤทธิ์แก้ปวด ลดอักเสบอีกด้วย[17, 18]

สารสกัดจากธรรมชาติอีกชนิดที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในด้านการศึกษาคุณสมบัติทางการแพทย์คือสารสกัดจากกัญชา ซึ่งถูกจัดเป็นสารประเภท แคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) ซึ่งเป็นสารที่สามารถกระตุ้นระบบเอนโดแคนนาบินอยด์ (Endocannabinoid system :ECS) ในร่างกายของมนุษย์ได้ สารสกัดแคนนาบินอยด์จากพืชกัญชาซึ่งมาจากภายนอกร่างกายจึงถูกเรียกเป็น Exogenous cannabinoids ซึ่งมีหลายชนิด ได้แก่ CBD, Tetrahydrocannabinol (THC) และ Cannabigerol (CBG) โดยสารเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ได้กับตัวรับแคนนาบินอยด์ (Cannabinoid receptor) ที่มีในร่างกายมนุษย์รวมถึงเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันด้วย ฤทธิ์ของมันส่งผลต่อร่างกายมากมาย ได้แก่ ลดอาการเจ็บปวด ลดอาเจียน กันชัก รวมถึงลดการอักเสบผ่านกลไกการลดการสร้างไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบหลายชนิด ในทางทันตกรรมมีการนำมาใช้หลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นยาเม็ด ยาแคปซูล น้ำมันทา ผสมกับยาสีฟัน สเปรย์ น้ำยาบ้วนปาก หมากฝรั่ง ถึงขั้นที่ผสมในวัสดุอุดฟันก็มี[19] แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่หลากหลายในการนำสารสกัดเหล่านี้มาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ในทางทันตกรรม

จากฤทธิ์ต้านการอักเสบน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก จึงเกิดงานวิจัยต่อยอดเพื่อพัฒนาให้เกิดน้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่ที่มีส่วนประกอบอื่นช่วยเสริมฤทธิ์การอักเสบ เช่น งานวิจัยของ Nisapa[20] และ Suetrongtrakool[21] ที่ได้เพิ่มแคนนานิดอล และ กาวผึ้งเข้ามาเป็นส่วนประกอบของน้ำยาบ้วนปาก และทั้ง 2 งานวิจัยดังกล่าวได้ผลลัพธ์ในห้องปฏิบัติการที่ดี ว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ล้วนแล้วแต่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง TNF-α ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งสิ้น

อย่างไรก็ตาม น้ำยาบ้วนปากสูตรที่พัฒนามานั้น นอกจากฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ น่าจะยังมีคุณประโยชน์อีกด้านหนึ่งที่ยังไม่ได้ทำการศึกษา นั้นคือความสามารถในการต่อต้านเชื้อใน

ช่องปาก เพราะส่วนประกอบต่างๆ ของน้ำยาบ้วนปากที่ทำการศึกษานั้นล้วนแล้วแต่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสิ้น หากศึกษาแล้วพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคในช่องปากได้จริง จะหมายความว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่ที่กำลังพัฒนานี้จะมีทั้งฤทธิ์ต้านการอักเสบ และต้านแบคทีเรียอันจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาไปเป็นน้ำยาบ้วนปากทางเลือกที่น่าสนใจในการใช้งานจริงเพื่อบรรเทาโรค และเพื่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยต่อไปนั้นเอง ในการศึกษานี้จึงจะทำการทดลองน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ กับเชื้อก่อโรคในช่องปาก โดยชนิดเชื้อก่อโรคในช่องปากที่เลือกศึกษานั้น เลือกจากชนิดที่มีความชุกของโรคที่ก่อสูงที่สุด โดยในกลุ่มแบคทีเรีย คือ โรคฟันผุจากเชื้อ *Streptococcus mutans* และ เชื้อก่อโรคในช่องปากอีกชนิดที่มีความชุกของการก่อโรคในช่องปากสูง คือ เชื้อ *Candida albicans*

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อก่อโรคในช่องปาก

ตัวแปรศึกษา

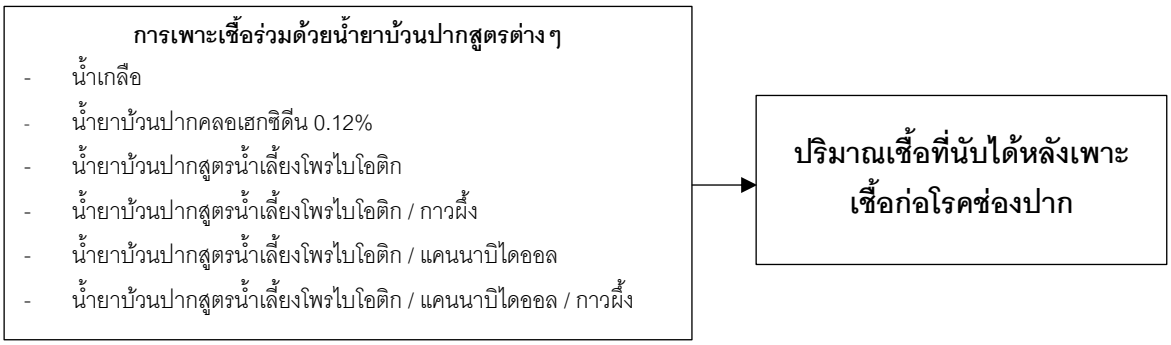
<u>ตัวแปรอิสระ</u> คือ น้ำยาบ้วนปากชนิดต่างๆ อันได้แก่

- ตัวควบคุมลบ : สารละลายโซเดียม คลอไรด์ 0.9%
- ตัวควบคุมบวก : น้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน 0.12%
- น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (*Lactobacillus paracasei* supernatants)
- น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ผสมกาวผึ้ง
- น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ผสม CBD
- น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ผสม CBD และกาวผึ้ง

ตัวแปรตาม ได้แก่

- ปริมาณเชื้อที่นับได้หลังเพาะเชื้อก่อโรคในช่องปากด้วยน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ

กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดวิจัย

สมมุติฐานในการวิจัย

H_0: ปริมาณเชื้อที่เพาะร่วมกับน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ไม่แตกต่างกับตัวควบคุมลบ

H_1: ปริมาณเชื้อที่เพาะร่วมกับน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ แตกต่างกับตัวควบคุมลบ

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จุลินทรีย์ และช่องปาก

อาหารเป็นหนึ่งในปัจจัยที่จำเป็นต่อการมีชีวิตของมนุษย์โดยเป็นทั้งแหล่งพลังงานหลักเพื่อการดำรงชีวิต หรือบางกรณีเป็นการสันทนาการเพื่อความสุขแบบหนึ่ง อาหารจึงเป็นสิ่งที่มนุษย์ต้องพิถีพิถันในการสรรหาให้ได้คุณภาพที่ดีที่สุด มิติหนึ่งของคุณภาพอาหารที่สำคัญนอกเหนือจากรสชาติหรือคุณค่าทางโภชนา คือ ความสะอาดของอาหาร เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่าการรับประทานอาหารที่มีเชื้อโรคอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ต่างๆ เช่น คลื่นไส้, ปวดท้อง, อาเจียน หรือท้องเสีย[22] เป็นต้น ทั้งนี้ก็ไม่ได้หมายความว่าอาหารที่เราบริโภคกันโดยทั่วไปจะปราศจากซึ่งเชื้อเลย แต่อาจประกอบด้วยเชื้อทั้งชนิดที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค ซึ่งหากมีปริมาณของเชื้อก่อโรคมีมากเพียงพอไม่ว่าด้วยเหตุใด ก็อาจทำให้เกิดโรคเมื่อบริโภคเข้าไปได้ เช่นเดียวกับช่องปากของเราที่เป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์มากกว่า 700 สปีชีส์[1] ทั้งชนิดที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคอาศัยอยู่ร่วมกันในสภาพแวดล้อมของช่องปากซึ่งมีลักษณะเฉพาะตัวไม่เหมือนบริเวณอื่นในร่างกาย เช่น พื้นผิวลิ้น, ร่องเหงือก, ผิวฟัน หรือ ร่องฟัน ร่วมกับสภาพแวดล้อมอื่นๆ ได้แก่ ความชื้น, อุณหภูมิ, ค่า pH และออกซิเจน เป็นต้น ทั้งสภาพแวดล้อมเฉพาะตัวดังกล่าว ร่วมกับสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกันในบริเวณนี้จึงทำให้เกิดสิ่งที่เรียกว่า ชุมชนจุลินทรีย์ในช่องปาก ขึ้นมานั้นเอง

ชุมชนจุลินทรีย์ในช่องปาก หมายถึง ข้อมูลจุลินทรีย์ของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กทั้งหมดที่อาศัยอยู่ภายในช่องปาก ซึ่งหมายรวมถึงเชื้อก่อโรค และเชื้อที่ไม่ก่อโรคด้วย[4] โดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเหล่านี้ในสภาวะปกติจะอาศัยร่วมกันจะอยู่ในดุลยภาพของจุลชีพ (Homeostasis) แต่หากมีสิ่งกระตุ้นใดมารบกวนสมดุลดังกล่าวจนเกิดภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์[23] อาจทำให้เชื้อก่อโรคชนิดใดชนิดหนึ่งมีปริมาณมากพอที่จะก่อให้เกิดโรคได้ เช่น เชื้อรา *Candida albicans* ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อฉวยโอกาส [24] เป็นต้น

เหล่าเชื้อหลากหลายชนิดที่ประกอบกันเป็นชุมชนจุลินทรีย์ในช่องปากนั้น มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากชุมชนจุลินทรีย์ที่บริเวณอื่นๆ ในร่างกาย เป็นเพราะสภาพแวดล้อมภายในช่องปากที่มีลักษณะต่างแตกจากบริเวณอื่นในร่างกาย สภาพแวดล้อมที่มีความเฉพาะรูปแบบของช่องปากนี้เรียกว่า ระบบนิเวศจุลชีพในช่องปาก (Oral microbiome) ซึ่งเป็นสิ่งที่มีผลโดยตรงต่อไมโครไบโอต้า และไม่ได้จำกัดว่าจะมีเพียงแบคทีเรียหรือเชื้อรา แต่จะรวมถึงไวรัส โปรโตซัว และ อาร์เคียอีกด้วย[23, 25, 26]

ระบบนิเวศจุลชีพในช่องปากทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันโรคในช่องปากโดยการป้องกันการตั้งรกรากของเชื้อก่อโรค และลดการติดเชื้อในช่องปาก[23, 25] อันเป็นต้นเหตุของโรคในช่องปาก เช่น โรคฟันผุ หรือโรคปริทันต์ เป็นต้น ดังนั้นการคงไว้ซึ่งความสมบูรณ์ของระบบนิเวศจุลชีพในช่องปากจะสามารถลดโอกาสการเกิดโรคได้

โรคติดเชื้อในช่องปาก

มนุษย์เราใช้ปากในการสื่อสารพูดคุย และรับประทานอาหาร ในบางครั้งยังเป็นส่วนสำคัญในการสร้างเสริมบุคลิกภาพและความมั่นใจ การมีสภาวะผิดปกติจนเกิดเป็นโรคในช่องปากจึงไม่ใช่เรื่องที่ควรเพิกเฉยและไม่สนใจ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นโรคในช่องปากกลับเป็นหนึ่งในโรคที่มีความชุกมากที่สุกทั่วโลก และสร้างความเสียหายต่อสุขภาพ, เศรษฐกิจ และคุณภาพชีวิตเป็นอย่างมาก[27] ไม่ว่าจะเป็นโรคฟันผุ, โรคปริทันต์ หรือมะเร็งในช่องปาก โดยถึงแม้ว่าโรคในช่องปากโดยมากมักจะเป็นโรคที่สามารถป้องกันได้ด้วยความรู้ความเข้าใจ และการดูแลรักษาสุขภาพช่องปากอย่างถูกวิธี แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในด้านเศรษฐศาสตร์ และการเข้าถึงการรักษา ที่ทำให้โรคในกลุ่มนี้ยังไม่สามารถถูกกำจัดออกไปได้

หนึ่งในปัจจัยสำคัญที่สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในช่องปากได้คือภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์[2] ซึ่งหมายถึงการเสียสมดุลเชื้อภายในช่องปากอันเป็นเหตุให้มีเชื้อที่เป็นประโยชน์น้อยลง และมีเชื้อที่สามารถก่อโรคได้มากขึ้น และอาจมากพอที่จะก่อโรคในช่องปากได้โดยไม่จำกัดว่าโรคที่เกิดขึ้นอาจจะเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคฟันผุ หรือ โรคปริทันต์ หรืออาจจะเป็นเชื้อรา เช่น โรคติดเชื้อราแคนดิดา เป็นต้น

เชื้อ *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม จัดเรียงตัวเป็นสายที่เจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่มีการศึกษาอย่างมากมายถึงความสัมพันธ์กับโรคฟันผุ เนื่องจากมีคุณสมบัติที่สามารถผลิตกรด, ทนต่อกรด และความสามารถในการเกาะติดกับพื้นผิว[28] อันเป็นคุณสมบัติที่ทำให้เชื้อชนิดนี้มีความสำคัญอย่างมากต่อการเกิดคราบจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นไบโอฟิล์มอันเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดโรคต่างๆ ในช่องปาก

กรดที่เชื้อชนิดนี้สร้างนั้น มาจากการหมักแป้งจากอาหารที่เรากินให้กลายเป็นกรดที่สามารถทำลายเนื้อฟันได้ นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์สารโพลีแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ได้เป็นปริมาณมากที่สุด อันเป็นสารที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของไบโอฟิล์มที่ทำให้ไบโอฟิล์มสามารถทนต่อสภาวะในช่องปากได้มากขึ้น และทำให้การควบคุมคราบจุลินทรีย์เป็นไปได้ยากขึ้น[29]

เชื้อ *Candida albicans*

Candida albicans เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่พบได้ที่เยื่อบุหลายบริเวณในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นระบบทางเดินอาหาร, ระบบสืบพันธุ์ของเพศหญิง, ช่องปาก และผิวหนัง ที่ถึงแม้จะคุณสมบัติในการก่อโรค แต่โดยทั่วไปจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายใดๆ แต่หากเมื่อใดที่สภาพแวดล้อมเข้าสู่สภาวะภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์ที่เอื้อหนุนต่อเชื้อ เช่น ค่า pH ที่เปลี่ยนไป หรือ สารอาหารเปลี่ยนไป ก็อาจทำให้เกิดโรคในกลุ่มโรคติดเชื้อราแคนดิดาได้ ปัจจัยที่อาจทำให้เกิดการเสียสมดุลดังกล่าว อาทิเช่นการใช้ยาปฏิชีวนะ หรือภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง[29, 30]

เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้มีคุณสมบัติที่เรียกว่าภาวะสองรูปแบบ กล่าวคือมี 2 รูปแบบ คือ รูปยีสต์ และรูปเส้นใย ทำให้ไบโอฟิล์มของเชื้อชนิดนี้ประกอบด้วยประกอบด้วยเซลล์เชื้อราหลายรูปแบบ อยู่ร่วมกันในแมทริกซ์ภายนอกเซลล์โดยเชื้อในรูปไบโอฟิล์มนั้นเพิ่มความสามารถในการต่อต้านยาต้านเชื้อรา และยิ่งก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากเมื่อเชื้อไปติดตามอุปกรณ์ทางการแพทย์ในร่างกาย เช่น ลิ้นหัวใจเทียม ข้อต่อเทียม หรือสายสวนปัสสาวะ เป็นต้น

ไบโอฟิล์มในช่องปากและการก่อโรค

เมื่อจุลชีพหลายๆ ชนิดที่มาอยู่ในร่วมกัน เกิดเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยจุลชีพที่มีปฏิสัมพันธ์กันหลายหลากรูปแบบที่เรียกว่าไบโอฟิล์มสำหรับในช่องปาก โครงสร้างเหล่านี้มักพบได้พบผิวฟัน[31] โดยเป็นโครงสร้างที่โดยในสภาวะปกติจะไม่ก่อโรค และสามารถพบได้ในบุคคลทั่วไป แต่หากมีภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์แล้วจะมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องอย่างมากกับกลไกในการก่อโรคในช่องปากต่างๆ ตัวอย่างที่อธิบายได้ชัดเจน เช่น เมื่อมีการบริโภคน้ำตาล แล้วไม่สามารถทำความสะอาดได้หมดจนเหลือกลายมาเป็นอาหารของเชื้อก่อโรคในไบโอฟิล์มได้ น้ำตาลดังกล่าวจะถูกเผาผลาญโดยเชื้อก่อโรคที่อยู่ในไบโอฟิล์มจนเกิดเป็นสารที่มีคุณสมบัติก่อโรคได้ เช่น สารโพลีแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (Exopolysaccharide :EPS) ที่ผลิตโดย *Streptococcus mutans* เป็นสารเหนียวปัจจัยที่ทำให้ไบโอฟิล์ม ถูกกำจัดได้ยากขึ้น ทำให้มีโอกาสก่อโรคอื่นๆ ได้อีกในอนาคตเป็นต้น

ช่องปากเป็นพื้นที่ที่เหมาะต่อการเพาะเชื้อ เพราะอุดมไปด้วยความชื้น อาหาร การควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม และพื้นที่ให้เชื้อโรคเกาะมากมาย เราอาจกล่าวได้ว่าช่องปากนั้นเหมือนสถานเพาะเชื้อขนาดย่อมๆ เลยก็ได้ อย่างไรก็ดีการกระบวนการการเกิดไบโอฟิล์ม ก็จะมีรูปแบบการเกิดเป็นแบบแผนอยู่ เริ่มจากโปรตีนในน้ำลายเริ่มมาเกาะที่ผิวฟันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า Acquired pellicle ก่อนที่เชื้อในกลุ่มแรกจะเริ่มมาเกาะต่อกันก่อน เชื้อในกลุ่มนี้มักเป็น

เชื้อในกลุ่มแกรมบวก รูปร่างกลม เช่น *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* และ *Streptococcus oralis* หรือ *Actinomyces viscosus และ Actinomyces naeslundii* เป็นต้น หากคราบจุลินทรีย์นี้สะสมต่อเนื่องกันนานโดยไม่ถูกกำจัดออกมาเสียก่อน เชื้อในกลุ่มอื่นๆ เช่น เชื้อแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง หรือเป็น สไปโรขีต (Spirochete) ก็จะเริ่มมาก่อเป็นกลุ่มก้อนของจุลินทรีย์ที่ใหญ่ขึ้นและกำจัดออกได้ยากขึ้นด้วย เมื่อเวลาผ่านไป 1-2 วันเชื้อในกลุ่มแรก (early colonizers) จะปรับสภาพของไบโอฟิล์มจนเหมาะกับเชื้อในกลุ่มต่อไปซึ่งเป็นเชื้อที่ทำหน้าที่เป็นสะพาน (Bridging specie) โดยเชื้อที่สำคัญในกลุ่มนี้ คือ *Fusobacterium nucleatum* ให้กับเชื้อในกลุ่มหลัง เช่น *Porphyromonas gingivalis* ซึ่งเป็นเชื้อที่เมื่อยิ่งมีมากจะชักนำทำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบได้

จะเห็นว่าไบโอฟิล์มของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากจะประกอบด้วยเชื้อหลายชนิด แต่สำหรับเชื้อราในกลุ่ม *Candida albicans* มีภาวะสองรูปแบบ ซึ่งทำให้ไบโอฟิล์มของเชื้อชนิดนี้สามารถขยายขนาดและเจริญเติบโตได้ด้วยเซลล์เพียงชนิดเดียว โดยเริ่มจากขั้นตอนการเกาะติดใช้เวลาประมาณ 60-90 นาที เซลล์จะเกาะกันบนพื้นผิวอย่างหลวมๆ เกิดเป็นเซลล์ชั้นฐาน ต่อจากนั้นเซลล์จะเกิดการงอกสาย (Filamentation) ขึ้นมา หลังจากนั้นจะเกิดการสะสมเซลล์เชื้อราในรูปร่างต่างๆ ทั้งแบบยีสต์ และแบบสายผสมกัน ยึดติดกันด้วยแมทริกซ์ภายนอกเซลล์ (Extracellular Matrix :ECM) ทำให้เกิดไบโอฟิล์มหนา สีขาวครีม ภายในประมาณ 24 ชั่วโมง โดยหลังจากนั้นมันยังสามารถแพร่เชื้อเพิ่มเติมได้โดยการปล่อยให้เชื้อที่อยู่ในรูปยีสต์ไหลไปก่อกำเนิดเป็นไบโอฟิล์มในลักษณะเดียวกันในบริเวณอื่น[30]

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่เมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะก่อให้เกิดผลดีหรือประโยชน์ต่อร่างกาย มีการนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ อาทิเช่น โรคลำไส้อักเสบเรื้อรังไอบีดี (Inflammatory Bowel Disease, IBD) และการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ[32] ส่วนในทางทันตกรรมมีรายงานถึงการใช้โพรไบโอติกในการป้องกันและรักษาโรคปริทันต์อักเสบ และโรคฟันผุ โดยการแย่งสารอาหารและพื้นผิวยึดเกาะกับเชื้อก่อโรคปริทันต์ และเชื้อก่อโรคฟันผุ รวมถึงมีฤทธิ์ลดการอักเสบโดยการรบกวนวิถีส่งสัญญาณ (Signaling pathway) ที่นำไปสู่การลดการแสดงออกของยีน TNF-α เป็นผลให้มีปริมาณ TNF-α ลดลงอีกด้วย[6] ทั้งนี้ไม่ใช่ว่าโพรไบโอติกทุกชนิดจะสามารถส่งผลที่ดีต่อสุขภาพในช่องปากได้ เนื่องจากชุมชนจุลินทรีย์ในช่องปากมีลักษณะเฉพาะตัวเกิดจากหลายๆ ปัจจัย อาทิเช่น พฤติกรรมการรับประทานอาหาร, น้ำลาย และ pH[1] ทำให้เกิดสภาพช่องปากที่ประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตอีกหลายชนิดทั้งชนิดที่สามารถก่อโรคได้

และชนิดที่ไม่ก่อโรค ในสภาพปกติองค์ประกอบทุกอย่างของชุมชนจุลินทรีย์จะอยู่ในดุลยภาพของจุลชีพ แต่เมื่อมีความไม่สมดุลหนุนเข้ามาในระบบ เช่น พฤติกรรมการรับประทานที่เปลี่ยนไป หรือปริมาณเชื้อก่อโรคที่มากขึ้น (ไม่ว่าจะเกิดจากพฤติกรรมรักษาความสะอาด หรือภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง) หากความไม่สมดุลเหล่านี้เข้ามามากเกินกว่าที่ความยืดหยุ่นชุมชนจุลินทรีย์จะรับไหว อาจก่อให้เกิดโรคต่างๆ ได้ จึงมีการศึกษาโพรไบโอติกที่สามารถเข้ามามีบทบาทในการจัดการกับความไม่สมดุลดังกล่าว เป็นแนวคิดการรักษาด้วยจุลชีพบำบัด

โพรไบโอติกทางการแพทย์

จากแนวคิดดังกล่าวที่เราได้ศึกษาทราบว่าจุลินทรีย์ขนาดเล็กเหล่านี้สามารถมีผลควบคุมกันและกันได้ จึงมีการศึกษาและพัฒนาการรักษาด้วยเชื้อที่ปลอดภัยมากขึ้น แนวคิดการรักษาด้วยแบคทีเรีย คือ การแทนที่เชื้อก่อโรคด้วยเชื้อที่ไม่ก่อโรคเพื่อหวังผลลดการเกิดโรค และลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมเชื้อก่อโรค[3] กลไกสำคัญที่โพรไบโอติกใช้ในการจัดการกับเชื้อก่อโรค คือ การแย่งสารอาหารกับเชื้อก่อโรค และการสร้างไบโอฟิล์มมาแข่งในแง่ของพื้นที่ยึดเกาะและสารอาหาร[4]

แนวคิดการรักษาด้วยแบคทีเรีย ได้มีการศึกษาเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Clostridium difficile* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะในทางเดินอาหารด้วยการทำ Faecal microbiota transplantation (FMT) ซึ่งคือการปลูกถ่ายจุลินทรีย์จากอุจจาระของผู้มีสุขภาพดี เพื่อฟื้นฟูชุมชนจุลินทรีย์จากสภาวะเสียสมดุลและเป็นโรคในลำไส้ให้กลับมาปกติ[33, 34] โดยกลไกฟื้นฟูสมดุลดังกล่าวมาจากการที่เชื้อที่ได้ที่ได้รับการปลูกถ่ายมาสามารถแย่งอาหารแข่งกับเชื้อก่อโรค, ขัดขวางปัจจัยก่อโรค (Virulence factors) ของเชื้อก่อโรค และสามารถฆ่าเชื้อก่อโรคได้โดยตรง[33] นอกจากนี้ยังสามารถช่วยกระตุ้นการหลั่งน้ำดีในระบบทางเดินอาหารซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อก่อโรคไม่ให้เจริญเติบโตได้ โดยการปลูกถ่ายจุลินทรีย์ที่ดีนี้ได้รับการศึกษาและพัฒนาต่อเนื่องจนกลายเป็นทางเลือกการรักษาภาวะติดเชื้อ *Clostridium difficile* ที่ไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ โดยสามารถปลูกถ่ายได้ทั้งในรูปแบบยาแคปซูล หรือปลูกถ่ายผ่านการส่องกล้อง (Colonoscopy) ก็ได้[33, 34]

โพรไบโอติก และช่องปาก

โรคติดเชื้อในช่องปากหลายโรคก็เกิดจากกลไกการมีไบโอฟิล์มซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญในการก่อโรคในช่องปากอย่างโรคฟันผุ, โรคเหงือกอักเสบ และรวมถึงไปโรคปริทันต์อักเสบด้วยเช่นกัน โดยเริ่มจากการสูญเสียสมดุลจากปัจจัยต่างๆ เช่น พฤติกรรมการบริโภค, สุขภาวะของช่องปาก, โรคประจำตัว และการใช้ยา ทำให้เกิดภาวะเสียสมดุล และนำไปสู่การเกิดโรค[2] ดังนั้น จึง

สามารถนำแนวทางการรักษาดังกล่าวมาใช้ประโยชน์กับโรคในช่องปากได้เช่นกัน การใช้โพรไบโอติกเพื่อหวังผลลดการเกิดโรคในช่องปากผ่านกลไกดังกล่าวจึงเริ่มมีการศึกษาในวงกว้างมากขึ้น

Lactobacillus species

Lactobacillus เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกออกมาได้ด้วยการหมักและ มีความสามารถในการทนกรด ด้วยความที่มีคุณสมบัติยึดเกาะสูงและสามารถทนสภาพในช่องปากได้ จึงเกิดการแย่งจับพื้นผิวและลดการก่อโรคได้[5] นอกจากคุณสมบัติในแง่ของโพรไบโอติกแล้วยังพบว่าสารที่หลั่งออกมาจาก *Lactobacillus* ก็ยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอีกด้วย การให้ประโยชน์ในรูปแบบนี้เรียกว่า โพสไบไอติก (Postbiotics) ตัวอย่างเช่น น้ำเลี้ยง *L.rhamnosus* GG พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค *P. gingivalis*, *C. albicans* และ *S. mutans* ได้ เนื่องจากมีสารต้านเชื้อโรคที่เรียกว่า Bacteriocin ถูกหลั่งออกมาเป็นจำนวนมาก[4] การเก็บสารเหล่านี้ในรูปแบบน้ำเลี้ยงเชื้อ หากเทียบกับโพรไบโอติก จะมีข้อจำกัดน้อยกว่า เพราะไม่จำเป็นต้องคงสภาพเชื้อที่มีชีวิต

ด้วยคุณสมบัติการลดการอักเสบดังกล่าว Boonyarut[13] จึงทำการศึกษาเพื่อคัดกรองแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากแบคทีเรียหลายชนิด พบว่า *Lactobacillus* มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก และฤทธิ์ลดการอักเสบได้โดยจากการศึกษาดังกล่าวพบว่า สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการผลิต TNF-α ได้สูงที่สุด คือ *Lactobacillus paracasei* โดยการใช้ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อปลอดเซลล์[13] จึงเป็นที่มาของงานวิจัยอีกหลายชิ้นที่นำผลวิจัยนี้ไปต่อยอด

การศึกษาที่นำน้ำเลี้ยงเชื้อปลอดเซลล์มาเริ่มทดสอบคือการศึกษาของ Banjonjit [14]ที่ศึกษาผลการใช้น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 เป็นน้ำล้างแผลประกอบการผ่าฟันกรามคุดต่อระดับ TNF-α ปรากฏว่าให้ผลลัพธ์คือ สามารถลดระดับ TNF-α ในกลุ่มทดลองเมื่อเทียบกับการใช้น้ำเกลือล้างแผลแบบปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังสามารถลดอาการข้างเคียงจากการผ่าตัด ได้แก่อาการเจ็บ บวม และอ้าปากได้น้อยได้อีกด้วย[14]

การต่อต้านเชื้อก่อโรคของน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์

นอกจากฤทธิ์การต้านการอักเสบของโพรไบโอติกแล้ว โพรไบโอติกยังมีฤทธิ์ต้านเชื้ออีกด้วยโดยฤทธิ์ดังกล่าวสามารถปรากฏให้เห็นได้แม้จะอยู่ในรูปน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ (Cell-free culture supernatant) โดยจะอยู่ในรูปเปปไทด์ (Peptide) หรือ แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ดังปรากฏในการศึกษาของ Keeratikunakorn[35] ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต่อต้านเชื้อก่อโรคในอสุจิหมีด้วยน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ของโพรไบโอติก โดยการศึกษาดังกล่าวได้นำน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์จาก

Bacillus spp., *Enterococcus* spp., *Weissella* spp., *Lactobacillus* spp., และ *Pediococcus* spp. มาทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่แยกเชื้อจากอสุจิหมีโดยได้เลือกมา 3 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* และ *Proteus mirabilis* โดยได้ผลปรากฏว่าน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ของ *Enterococcus faecium*, *Weissella confusa*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici* สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่สนใจได้ทั้ง 3 ชนิดโดยมีแนวโน้มจะลดลงตามเวลาระยะเวลาที่ทดสอบ หนึ่งข้อสังเกตที่คณะวิจัยชี้คือ แม้ว่าในงานวิจัยนี้ได้ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์เป็น 6.0 ก่อนการทดสอบ แต่ก็ยังได้ผลการยับยั้งเชื้อก่อโรคอย่างมีนัยสำคัญ นั้นหมายความว่าผลการยับยั้งเชื้อน่าจะมาจาก Antimicrobial peptides บางชนิดที่มีในน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Boonyarut[13] ที่ทำการศึกษาน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์จาก *Lactobacillus paracasei* ที่เมื่อใส่ Proteinase-K เข้าไปพบว่าผลการยับยั้ง TNF-α ลดลง จึงได้ทำการสรุปว่า ในน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์นั้น น่าจะมีสารจำพวกโปรตีนที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง TNF-α ได้นั้นเอง

ทันตกรรมและการอักเสบ

โรคในช่องปากเป็นหนึ่งในโรคที่ส่งผลต่อมนุษย์เป็นอย่างมากทั้งในด้านสุขภาพ ด้านสังคม และด้านเศรษฐกิจ[27] ไม่ว่าจะเป็นโรคฟันผุ โรคปริทันต์อักเสบ อันสามารถนำไปสู่การสูญเสียฟันได้ในที่สุด[27] กลไกก่อโรคที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ การอักเสบ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกายที่มีต่อภยันตรายต่างๆ ที่เกิดต่อร่างกายเพื่อมีจุดหมายคือการฟื้นฟูร่างกายจากภยันตรายดังกล่าว แต่ในทางกลับกัน การอักเสบในหลายกรณีที่มีในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลเสียต่อร่างกายได้ เช่น อาการบวม ความเจ็บปวด การสูญเสียหน้าที่ของอวัยวะบางส่วนหรือทั้งหมด ทั้งนี้การอักเสบในช่องปากนั้นหลายกรณีมิได้เกิดจากเพียงสิ่งกระตุ้นก่อโรค เช่น เชื้อโรค ไวรัส ภยันตรายทางกายภาพ หรือสารเคมีบางชนิด แต่อาจจะเกิดจากขั้นตอนการรักษาทางทันตกรรมที่มีความจำเป็นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะต้องสร้างแผลเพื่อผลแห่งการรักษา ตัวอย่างที่เห็นชัดที่สุดคือ งานในกลุ่มศัลยกรรมช่องปาก เช่น การผ่าฟันคุดที่ในหลายเคสจำเป็นต้องมีการเปิดแผ่นเหงือก หรือกรอกระดูกเพื่อเปิดพื้นที่ให้มากพอจะทำหัตถการได้ ร่างกายก็ตอบสนองต่อการทำลายเนื้อเยื่อดังกล่าวด้วยการอักเสบเช่นกัน นำมาซึ่งอาการไม่พึงประสงค์ และภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจากการผ่าตัด ซึ่งหลายครั้ง สิ่งไม่พึงประสงค์เหล่านี้กลายเป็นตัวการหลักที่ทำให้ผู้ป่วยไม่มารับการรักษาทางทันตกรรม เป็นผลให้โรคดำเนินไปสู่ระดับที่มีความรุนแรงมากขึ้น ต้องรับการรักษาที่ซับซ้อนมากขึ้นซึ่งทำให้เกิดภาวะไม่พึงประสงค์จากการรักษามากขึ้นกว่าเดิมอีก จากที่

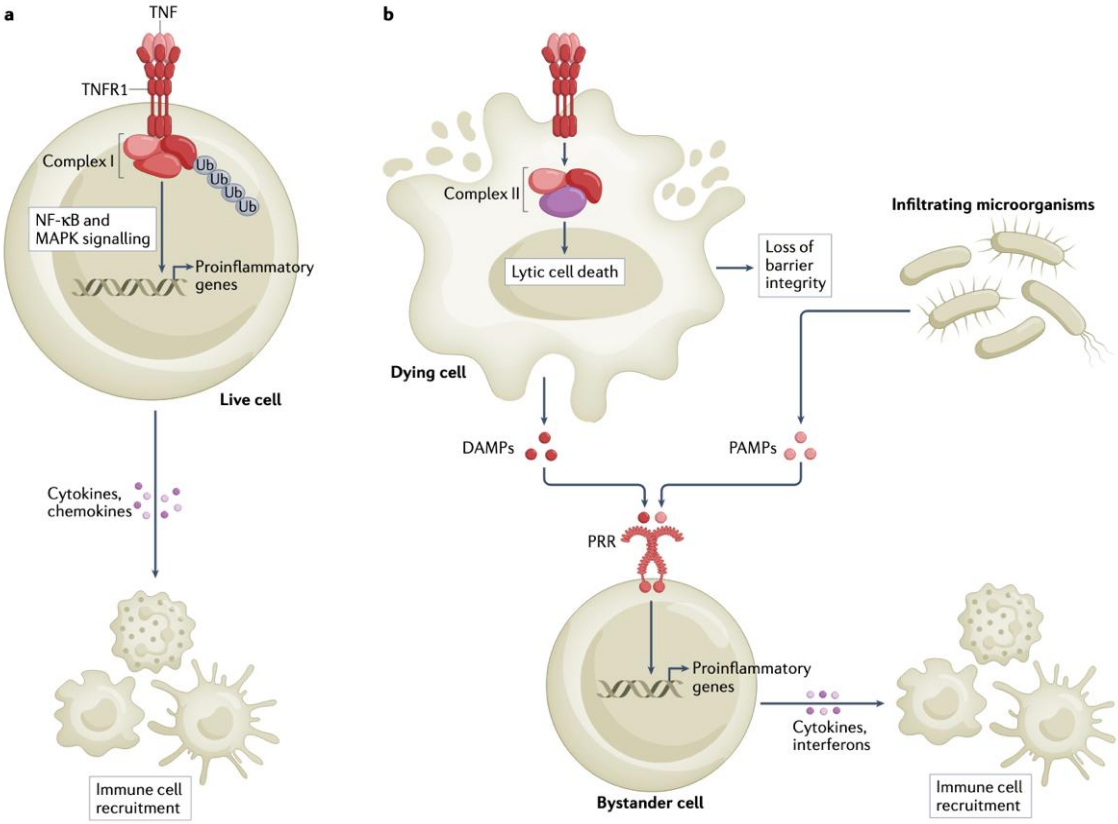
กล่าวมาจะเห็นได้ว่าการอักเสบเป็นหนึ่งในกลไกสำคัญที่มีผลต่อสุขภาพช่องปากของมนุษย์อย่างมาก ไม่ว่าจะเกิดจากโรคโดยตรง หรือเกิดจากการรักษาโดยทันตแพทย์ทางอ้อม การเข้าใจกลไกการอักเสบจึงเป็นกุญแจสำคัญไปสู่การรักษาสุขภาพช่องปากที่ดี

การอักเสบนั้นเป็นผลต่อเนื่องจากการที่ร่างกายได้รับภยันตรายที่ร่างกายจะตอบสนองเพื่อฟื้นฟูแบ่งเป็น 4 ระยะได้แก่

1. ระยะห้ามเลือด (Hemostasis)
2. ระยะอักเสบ (Inflammation)
3. ระยะแบ่งตัว (Proliferation)
4. ระยะจัดระเบียบ (Remodeling)

ภาพรวมของขั้นตอนดังกล่าว คือ เมื่อร่างกายได้รับความเสียหาย ร่างกายจะตอบสนองด้วยการหดตัวของเส้นเลือดเป็นระยะสั้นๆ เพื่อหยุดไม่ให้สูญเสียเลือดไปนอกระบบ จากนั้นเกล็ดเลือดจะเริ่มส่งสัญญาณที่ได้รับจากเซลล์และสารระหว่างเซลล์ในบริเวณที่บาดเจ็บเพื่อกระตุ้นการทำงานของขั้นตอนการห้ามเลือด ซึ่งประกอบด้วยสารน้ำมากมายหลายชนิด เช่น fibronectin, collagen, von Willebrand factor ทำให้เกิดลิ่มเลือดที่มีหน้าที่นอกจากเพื่อซ่อมแซมหลอดเลือดที่เสียหายแล้ว ยังมีหน้าที่หลั่ง factors หลาย ณ บริเวณที่เกิดความเสียหาย อาทิเช่น PF4, PDGF, VEGF, FGF, TGF-β1 รวมถึงมีการหลั่งสารสื่ออักเสบ (pro-inflammatory factors) หลายชนิดรวมถึง IL-8, CXCL8, IL-1α, IL-1β, IL-6 และ TNF-α สารเหล่านี้มีความจำเป็นและสำคัญอย่างมากในขั้นตอนการหายของแผล แต่หากมีปริมาณมากจะทำให้เกิดการอักเสบที่มากขึ้น เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ต่อร่างกายมากขึ้น การควบคุมสารสื่ออักเสบในขั้นตอนนี้จึงเป็นเป้าหมายการรักษาเพื่อลดอาการไม่พึงประสงค์ของการอักเสบได้

สารสื่ออักเสบ : TNF-α



ภาพประกอบ 2 การส่งสัญญาณที่นำไปสู่การอักเสบ จาก TNF-α

ที่มา : Van Loo G. (2023). Death by TNF: A road to inflammation

สารสื่ออักเสบตัวแรกๆ ที่มีการตรวจพบเมื่อมีความเสียหายต่อเนื้อเยื่อคือ TNF-α โดยจะตรวจพบได้ทันทีหลังเกิดแผล และจะเพิ่มความเข้มข้นไปสูงสุดได้ภายในวันแรก เป็นสารสื่ออักเสบที่มีความสำคัญอย่างมากในการเริ่มต้นกระบวนการอักเสบขึ้น มีบทบาทหลายอย่างที่ ได้แก่

1. ส่งสัญญาณเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวมายังบริเวณที่บาดเจ็บ โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเล็ดลอดขอ ผ่านหลอดเลือด (Diapedesis) มายังบริเวณที่บาดเจ็บ เซลล์ชนิดแรกๆ ที่มาก่อนคือ นิวโทรฟิล และ โมโนไซต์ซึ่งต่อมาจะเปลี่ยนไปเป็นมาโครฟาจและเป็นแหล่งกำเนิดของหลัก TNF-α ในขั้นตอนต่อๆ ไปของการหายของแผล

2. กระตุ้นเซลล์โดยตรงให้แสดงออกยีนอักเสบมากขึ้น ผ่านการกระตุ้นผ่านตัวรับ TNF receptor 1 (TNFR1) ซึ่งกระตุ้น mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway และ

nuclear factor-**K**B (NF-**K**B) pathway มีผลกระตุ้นเซลล์ให้แสดงออกยีนที่เกี่ยวข้องกับสารอักเสบ ให้มีการสร้างสารสื่ออักเสบประเภทอื่นๆ นำไปสู่ความอักเสบที่มากขึ้น

3. กระตุ้นให้เกิดเซลล์ตาย ผ่านการกระตุ้นผ่านตัวรับ TNFR1 ซึ่งเมื่อเซลล์ตาย เซลล์จะปลดปล่อย Damage-associated molecular pattern (DAMPs) ออกมานอกเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบเหล่านั้นสามารถกระตุ้นเซลล์อื่นๆ (bystander cell) ให้แสดงออกยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้ และหากเซลล์ที่ตายเกี่ยวข้องกับโครงสร้างที่ห่อหุ้มร่างกาย เช่น ผิวหนัง จะทำให้เชื้อก่อโรคสามารถเข้าถึงบริเวณที่อักเสบ เชื้อเหล่านั้นจะปล่อย Pathogen-associated molecular pattern (PAMPs) ซึ่งสามารถกระตุ้นการอักเสบได้เพิ่มเติมอีกด้วย

อย่างไรก็ตาม การมีปริมาณของ TNF-α มากเกินไปจะส่งผลเสียได้ โดยปริมาณของ TNF-α ทั้งในพื้นที่บาดเจ็บและทางระบบที่สูงเกี่ยวข้องกับการหายของแผลที่ผิดปกติ และแผลเรื้อรัง ในทางกลับกัน การยับยั้ง TNF-α กลับมีผลแก้ไขการหายของแผลที่ผิดปกติอีกด้วย[36]

แคนนาบิไดออล (Cannabidiol : CBD)

สารสกัดจากธรรมชาติอีกชนิดที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในด้านการศึกษาคุณสมบัติทางการแพทย์คือสารสกัดจากพืชกัญชา (*Cannabis sativa* L.) ซึ่งถูกจัดเป็นสารประเภทแคนนาบินอยด์ ซึ่งเป็นสารที่สามารถกระตุ้นระบบเอนโดแคนนาบินอยด์ในร่างกายของมนุษย์ได้ โดยสารเหล่านี้มีที่มาได้จากหลายแหล่ง ได้แก่ สังเคราะห์ในร่างกายเอง, สารสังเคราะห์และจากพืช รวมถึงพืชกัญชาด้วย แคนนาบินอยด์จากพืชกัญชามีหลากหลายมากกว่า 180 ชนิด[37] สารที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย เช่น THC, CBD และ CBG โดยสารเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ได้กับตัวรับแคนนาบินอยด์ที่มีในร่างกายมนุษย์รวมถึงเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน[37, 38] ทำให้สารชนิดนี้มีฤทธิ์ที่สามารถใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้ เช่น ลดอาการเจ็บปวด ลดอาเจียน กันชัก[39] รวมถึงลดการอักเสบผ่านกลไกการลดการสร้างไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบหลายชนิด

ด้วยฤทธิ์ดังกล่าวทำให้แคนนาบินอยได้รับความสนใจในการประยุกต์มาใช้ทางการแพทย์ หนึ่งในสารสกัดที่น่าสนใจ และมีการวิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ทางการแพทย์อย่างต่อเนื่องคือ CBDเนื่องจากเป็นสารที่ปลอดภัยและไม่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทที่พบได้มากที่สุดในกัญชา[38, 40, 41] โดย แคนนาบิไดออลมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และมีการใช้งานในการรักษาการอักเสบ, โรคในระบบภูมิคุ้มกัน ,ระบบหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงมะเร็ง[38]

ฤทธิ์ต้านเชื้อโรคในช่องปากของ CBD

เริ่มมีการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดจากกัญชาครั้งแรกตั้งแต่ช่วงปี 1950 แต่ในเวลานั้นยังไม่มีการค้นพบและระบุสารเคมีต่างๆ ในสารสกัดกัญชา จึงทำให้ไม่สามารถระบุ

สารเคมีที่เป็นตัวออกฤทธิ์สำคัญได้ ต่อมาในปี 1976 จึงเริ่มพบว่าสารเคมีที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ THC และ CBD[37, 42] โดยผลการทดสอบ คือ สารทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อโรคได้ แต่ฤทธิ์ของมันจะอ่อนลงถึง 10 เท่าหากมีการเพิ่ม serum ลงไป บ่งชี้ว่าสารทั้ง 2 ชนิดแม้จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อแต่อาจจำกัดเฉพาะการใช้แบบเฉพาะที่

หลังจากการค้นพบดังกล่าวจึงเริ่มมีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อโรคเพื่อนำมาใช้ในมนุษย์มากขึ้น เช่นการศึกษาของ Barak[39] ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อของแคนนาบิไดออลต่อ *Streptococcus mutans* ทั้งในรูปแบบไบโอฟิล์มและรูปแบบสภาวะลอยตัว (Planktonic) โดยพบว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อ และการสร้างไบโอฟิล์มได้ถึง 90±6% คือที่ความเข้มข้น 5 μg/mL ซึ่งการที่ความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อทั้ง 2 รูปแบบมีค่าเท่ากัน แสดงให้คุณสมบัติการต่อต้านไบโอฟิล์มของแคนนาบิไดออลน่าจะมาจากคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อนี้เอง นอกจากนี้แคนนาบิไดออลยังสามารถลดการยึดเกาะ และการทำงานของเซลล์ลดได้ ซึ่งวัดได้จากมวลของไบโอฟิล์ม และปริมาณสารที่เซลล์สร้าง (ในการศึกษานี้คือ EPS) ที่ความเข้มข้น 4 μg/mL นอกจากนี้แคนนาบิไดออลที่ความเข้มข้นเพียง 2.5 μg/mL ก็เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ถึง 10 ชั่วโมง

อีกการศึกษาที่น่าสนใจคือการศึกษาของ Feldman[43] ในเรื่องฤทธิ์การต้านไบโอฟิล์มของ *Candida albicans* ด้วย CBD พบว่าถึงแม้ว่ายังไม่พบ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำลายเชื้อรา (Minimum Fungicidal Concentration : MFC) ในการศึกษานี้ โดยพบเพียง $MIC_{50} \approx$ 12.5 μg/mL และ $MIC_{90} \approx$ 100 μg/mL แต่อย่างน้อยก็ทราบว่าผลการยับยั้งเชื้อนั้นเป็นรูปแบบการออกฤทธิ์ขึ้นกับเวลา (Time-dependent) และ ออกฤทธิ์ขึ้นกับความเข้มข้น (Concentration-dependent) นอกจากนี้แคนนาบิไดออลมีผลต่อไบโอฟิล์มของเชื้อชนิดนี้ด้วยหลายกลไก เช่น การลดการสร้างยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแมทริกซ์ภายนอกเซลล์, ยับยั้งการแปรสภาพจากรูปแบบยีสเป็นรูปแบบเส้นใย เป็นต้น โดยเริ่มมีผลรบกวนไบโอฟิล์มที่ก่อตัวแล้ว 24 ชั่วโมงตั้งแต่ความเข้มข้น 6.25 μg/mL เป็นต้นไป โดยแม้ว่า CBD ในการศึกษานี้จะไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ แต่การรบกวนต่อไบโอฟิล์มของเชื้อ อาจจะเพียงพอในการลดความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อลงได้แล้ว

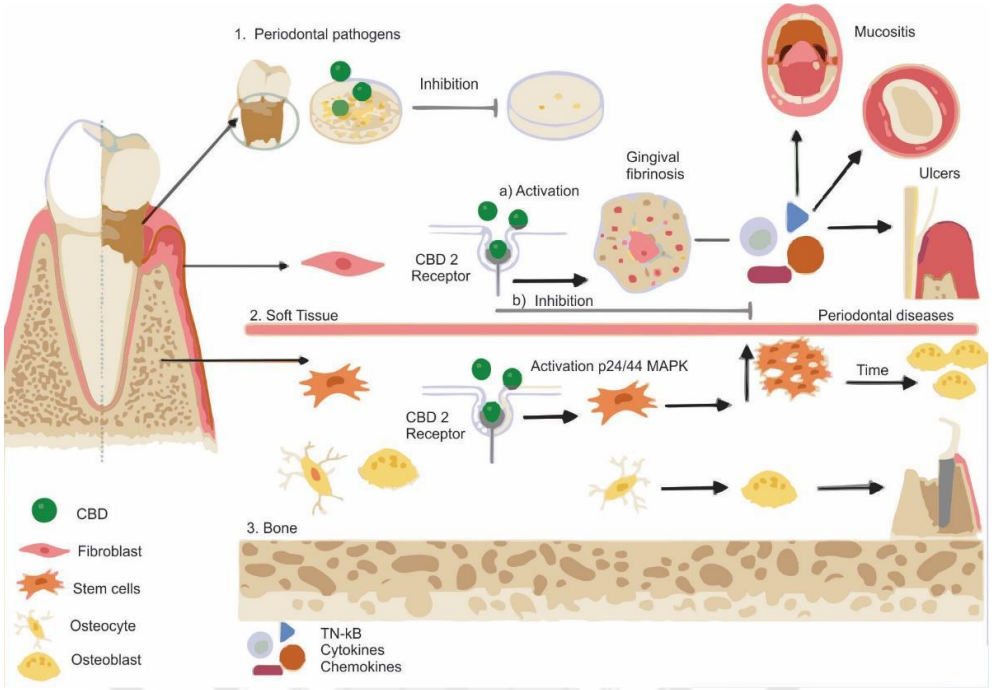
สารสกัดกัญชาในทางทันตกรรม

การใช้กัญชาในทางทันตกรรมมีปรากฏให้เห็นมาช้านานแล้วในประเทศจีนตั้งแต่ 2700 ปีก่อนคริสกาล ที่ปรากฏการใช้ *Cannabis sativa* ในการบรรเทาอาการปวดฟัน โดยมีสารประกอบหลายชนิด ได้แก่ แคนนาบินอยด์, เทอร์พีน (Terpenes) และ ฟลาโวนอยด์

(Flavonoids) ที่ช่วยกันออกฤทธิ์ต้านอักเสบ, อนุมูลอิสระ, ต้านจุลชีพ, แก้ปวด, ต้านมะเร็ง และคลายกังวล ต่อตัวรับแคนนาบินอยด์ที่มีทั่วร่างกายรวมถึงภายในช่องปากด้วย การศึกษาผลการยับยั้งเชื้อก่อโรคในคราบจุลินทรีย์โดยการใช้ผงขัดฟันสูตรผสม CBD และการใช้น้ำยาบ้วนปากสูตรผสมแคนนาบินอยด์ พบว่าให้ผลยับยั้งเชื้อในคราบจุลินทรีย์ได้ไม่แตกต่างกับ คลอร์เฮกซิดีน (Chlorhexidine)

ตัวอย่างการพัฒนาการใช้สารสกัดจากกัญชาในรูปน้ำยาบ้วนปากเพื่อศึกษาผลต่อเชื้อในช่องปาก มีการศึกษาของ Kumar [44] ได้ทำการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ได้แก่ CBD และ แคนนาบิเจอรัล (Cannabigerol) ที่ความเข้มข้น <1% ต่อเชื้อที่พบในช่องปากในรูปแบบจำนวนแบคทีเรียที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้งหมด (Total culturable bacteria) จากคราบจุลินทรีย์ที่เก็บจากช่องปากของอาสาสมัคร เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่ขายอยู่ทั่วไปในท้องตลาด 2 ยี่ห้อ (ยี่ห้อ A เป็นตัวแทนน้ำยาบ้วนปากมีน้ำมันหอมระเหย และ แอลกอฮอล์ และ ยี่ห้อ B เป็นตัวแทนน้ำยาบ้วนปากที่ปราศจากแอลกอฮอล์ ที่มีฟลูออไรด์) และน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีนความเข้มข้น 0.2% เป็นตัวเปรียบเทียบมาตรฐาน (Gold standard) ด้วยการทดสอบการแพร่กระจายด้วยแผ่นกระดาษ (Disc diffusion) ซึ่งวัดผลจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงยับยั้งเชื้อได้ผลการศึกษาว่าน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดจากกัญชาทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างจากตัวควบคุมบวก หรือคือ น้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซีดีน 0.2% ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ A มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้เพียงเล็กน้อย และผลิตภัณฑ์ B ไม่แสดงการยับยั้งเชื้อเลย งานวิจัยชิ้นนี้เป็นเครื่องพิสูจน์ถึงว่าสารสกัดจากกัญชามีศักยในการพัฒนาต่อเป็นน้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่ที่มีประสิทธิภาพไม่แพ้มาตราฐานน้ำยาบ้วนปากฆ่าเชื้อสูตรมาตราฐานอย่างคลอเฮกซีดีน ซึ่งมีผลข้างเตียงหลายอย่าง เช่น ฟันติดสี การรับรสเพี้ยน การติดเชื้อฉวยโอกาสบางชนิด เป็นต้น

นอกเหนือจากฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแล้ว CBD ยังมีผลต่อตัวรับแคนนาบินอยด์ 2 (CB2 receptors) อันเป็นผลดีต่อโรคปริทันต์อักเสบอีกด้วย[40] เมื่อมีการศึกษายา HU-308 ซึ่งเป็นยาเฉพาะที่ที่เป็นอนุพันธ์จาก CBD ในหนู พบว่า มีผลลดการละลายตัวของกระดูกเบ้ารับฟัน และ ลดสารสื่ออักเสบในหนูที่ได้รับไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide :LPS) เพื่อเหนี่ยวนำให้มี



ภาวะปริทันต์อักเสบ[45]

ภาพประกอบ 3 แสดงคุณประโยชน์ของแคนนาบิไดออลในทางทันตกรรม

ที่มา : Carla David. (2022). Cannabidiol in Dentistry: A Scoping Review

นอกจากในรูปแบบน้ำยาบ้วนปากแล้ว ยังมีการนำสารสกัดจากกัญชามาใช้หลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นยาเม็ด ยาแคปซูล น้ำมันทา ผสมกับยาสีฟัน สเปรย์ น้ำยาบ้วนปาก หมากฝรั่ง ถึงขั้นที่ผสมในวัสดุอุดฟันก็มี[19] มีการศึกษาขั้นต้นงานหนึ่งระบุผลสังเกตการณ์ว่าแคนนาบินอยด์มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ได้มากกว่ายาสีฟันที่ได้มาตราฐานอุตสาหกรรมทั่วไปในปัจจุบัน ด้วยแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่หลากหลายในการนำสารสกัดเหล่านี้มาพัฒนาในทางทันตกรรม

กาวผึ้ง (Propolis)

กาวผึ้งเป็นผลผลิตจากผึ้งที่เก็บจากเกสรดอกไม้ หรือยางไม้ต่างๆ มาผสมกับน้ำลายของผึ้งที่มีเอทไซม์ กลายเป็นสารเหนียวที่ผึ้งใช้ในการซ่อมและสร้างรังของมัน ตามความหมายของชื่อที่เป็นภาษากรีก ซึ่งมีคำว่า Pro แปลว่า ป้องกัน หรือปกป้อง และคำว่า polis แปลว่าเมือง คำว่า Propolis จึงมีความหมายถึง ปกป้องเมือง กำแพงเมือง[46] ซึ่งในบริบทนี้แปลถึงรังผึ้งทั้งในแง่กายภาพที่สามารถยึดโยงรังผึ้งเข้าไว้ด้วยกันและในแง่ชีวเคมีต่อเชื้อก่อโรคผึ้ง[15] เช่น *Paenibacillus larvae, Ascosphaera apis* และ *Nosema ceranae* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านไวรัสที่มากับพาหะที่เป็นปรสิตอีกด้วย

มนุษย์เริ่มมีการนำผลิตภัณฑ์จากผึ้งมาประยุกต์ใช้มาอย่างเนิ่นนาน มีบันทึกการนำกาวผึ้งมาใช้ประโยชน์โดยชาวโรมันและกรีกเมื่อประมาณช่วง 1300 ปีก่อนคริสกาล ด้วยคุณสมบัติช่วยเรื่องการหายของแผลกาวผึ้ง เมื่อเวลาผ่านมาจึงมีการศึกษาส่วนประกอบของกาวผึ้ง โดยถึงแม้องค์ประกอบของกาวผึ้งจากหลากหลายแหล่งที่มาจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับพืช ฤดูกาล และสายพันธุ์ผึ้ง แต่โดยทั่วไปนั้นจะเป็นสารเหนียวที่ประกอบไปด้วยยางไม้ประมาณ 50%, ขี้ผึ้ง 30%, น้ำมันหอมระเหย 10%, เกสร 5% และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ อีก 5% โดยสารประกอบ 5%[47, 48] ดังกล่าวนี้ถูกศึกษาค้นคว้าต่อเนื่อง พบว่ากาวผึ้งจากแหล่งที่มาต่างๆ ทั่วโลกนั้นมีความหลากหลายอย่างมากโดยพบสารที่แตกต่างกันมากถึง 800 ชนิดเลยทีเดียว[48] โดยที่ในกาวผึ่งแต่ละชนิดจะมีสารประกอบที่แตกต่างกันประมาณ 80-100 ชนิด[49] สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญได้แก่ สารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น กรดคาเฟอิกฟีนเอทิลเอสเตอร์ (Caffeic acid phenethyl ester), เควอซิทิน (Quercetin), ไบคาลิน (Baicalin), ไพโนเซมบริน (Pinocembrin), นารินจิน (Naringin), กาแลนจิน (Galangin) และ ไครซิน (Chrysin) [49] ซึ่งเป็นสารเหล่านี้ที่ทำให้กาวผึ้งมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบนั้นเอง โดยฤทธิ์ต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการผลิตโพสตาแกรนดิน และ ลิวโคไตรอีน (Leukotriene) ด้วยกรดคาเฟอิกฟีนีธิลเอสเทอร์จากกาวผึ้ง (Propolis-derived caffeic acid phenethyl ester; CAPE) นอกจากนี้ สารสกัดกาวผึ้งอีกตัว คือ เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ยังสามารถลดการแสดงออกของสารสื่ออักเสบได้หลายตัว เช่น IL-1β, IL-10 และ เอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทสแบบเหนี่ยวนำ (inducible nitric oxide synthase : iNOS)เป็นต้น กาวผึ้งยังมีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียเนื่องจากประกอบด้วยสารประกอบฟีนอล และฟลาโวนอยส์ความเข้นข้นสูง โดยมีกลไกต่อแบคทีเรียทำให้ผิวของเยื้อหุ้มเซลล์เป็นรู และแตกในที่สุด

กาวผึ้งยังสามารถจำแนกได้ด้วยหลายเกณฑ์ เช่น แบ่งตามลักษณะการเก็บเกี่ยว (แบ่งเป็นกาวผึ้งธรรมดาที่เก็บจากรังผึ้ง และกาวผึ้งดิน ที่เกิดจากผึ้งไร้เข็มพิษ ซึ่งกาวผึ้งจะมีดินเป็นส่วนประกอบด้วย)[50] , แบ่งตามแหล่งที่มาจากพืชแต่ละชนิดโดยแต่ละประเภทมีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปตามพืชในบริเวณที่ผึ้งเก็บรวบรวมสารเหล่านี้ ซึ่งด้วยเกณฑ์นี้ Jianglin Zhang และคณะ[51] ได้แบ่งกาวผึ้งออกได้ถึง 7 ชนิด ได้แก่ กาวผึ้งจากต้นป็อปลาร์ (Poplar propolis), กาวผึ้งจากต้นยูคาลิปตัส (Eucalyptus propolis), กาวผึ้งจากต้นบักคาริส หรือที่รู้จักกันในชื่อกาวผึ้งเขียวบราซิล (Baccharis propolis หรือ Brazil green propolis), กาวผึ้งจากต้นคลูเซีย หรือกาวผึ้งแดงบราซิล (Clusia propolis หรือ Brazil red propolis), กาวผึ้งจากต้นมาการังกา หรือกาวผึ้งเขียวจากไต้หวัน (Macaranga propolis หรือ Taiwanese green propolis), กาวผึ้งจากต้นเบอร์ช (Betula propolis) และกาวผึ้งจากแถบเมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean propolis) โดยที่กาวผึ้งจากแต่ละแหล่งที่มาจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันจากองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ด้วยเกณฑ์เดียวกันยังมีผู้ศึกษาคณะอื่นได้ทำการจำแนกต่างจากนี้ไปบ้างเนื่องจากมีการค้นพบกาวผึ้งชนิดใหม่ขึ้นมาเรื่อยๆ[48]

ฤทธิ์ต้านเชื้อโรคในช่องปากของกาวผึ้ง

Yuan และคณะ[52] ได้ทำการศึกษากาวผึ้งจากมณฑลซานตง ประเทศจีน พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกาวผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus mutans* ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่ามีค่า MIC ที่ 0.625 µL/mL และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำลายแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration : MBC) ที่ 1.8 µL/mL นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลต่อไบโอฟิล์มของเชื้อ พบว่าสามารถลดมวลของ biofilm และกิจกรรมของแบคทีเรียภายในไบโอฟิล์มได้ยังมีนัยสำคัญตั้งแต่ความเข้มข้นเพียง 1 ใน 4 ของ MIC เนื่องมาจากการยับยั้งแบคทีเรียที่มีบทบาทอย่างมากในการเกิดไบโอฟิล์มและยังศึกษาระดับแลคเตทดีไฮโดรจีเนส (Lactate dehydrogenase; LDH) และ Ca^{2+} ซึ่งเป็นเอนไซม์ และไอออนภายในเซลล์ของเชื้อภายหลังการทดสอบเชื้อกับน้ำมันหอมระเหยจากกาวผึ้งซึ่งจะพบได้เมื่อเยื้อหุ้มเซลล์แตกเท่านั้น พบว่า ระดับ LDH เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นน้ำมันหอมระเหยจากกาวผึ้งที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสาระสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากกาวผึ้งสามารถผ่านเข้า และทำลายเยื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อได้ ส่วนในด้านความปลอดภัยต่อร่างกายมนุษย์ ก็มีการทดสอบกับเซลล์เยื้อบุช่องปากของมนุษย์ ได้ผลว่าค่า IC_{10} มีค่าที่ 1.299 µL/mL ซึ่งสูงกว่าค่า MIC (0.625 µL/mL) อย่างมีนัยสำคัญ [52] การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของการใช้กาวผึ้งในการต่อต้านเชื้อก่อโรคฟันผุในมนุษย์ได้เป็นอย่างดี

ในส่วนของฤทธิ์การต้านเชื้อราของกาวผึ้ง Siqueira และคณะ[53] ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของกาวผึ้งแดงที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ต่อเชื้อราที่แยกมาจากผู้ป่วยโรคปริทันต์ได้แก่ *Candida albicans* 12 ตัวอย่าง, *Candida glabrata* 2 ตัวอย่าง, และ *Candida tropicalis* 5 ตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับ *Candida parapsilosis* ATCC 6258 เป็นตัวควบคุม พบว่ากาวผึ้งแดงสกัดสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ โดย *Candida albicans* มีค่า MIC ที่ 32–64 µg/mL และ MFC ที่ 64–512 µg/mL, *Candida glabrata* มีค่า MIC ที่ 64 µg/mL และ MFC ที่ 64–256 µg/mL และ *Candida tropicalis* มีค่า MIC ที่ 32–64 µg/mL และ MFC ที่ 64 µg/mL แต่ข้อสังเกตอีกประเด็นในงานวิจัยนี้คือ ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบร่วมกับคลอเฮกซีดิน และฟลูโคนาโซลด้วย และในบรรดากลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้ (*Candida albicans* 5 ตัวอย่าง, *Candida glabrata* 1 ตัวอย่าง, และ *Candida tropicalis* 1 ตัวอย่าง) แสดงการดื้อยาต่อฟลูโคนาโซล ซึ่งบ่งชี้อย่างชัดเจนถึงฤทธิ์ของกาวผึ้งที่มีศักยภาพที่จะเป็นทางเลือกการรักษาเชื้อรา นอกเหนือจากยาปฏิชีวนะ

กาวผึ้งทางทันตกรรม

กาวผึ้งเป็นหนึ่งในสารสกัดจากธรรมชาติที่มีการศึกษาการใช้งานด้านทันตกรรมอย่างมากด้วยคุณสมบัติต้านการอักเสบ และต้านเชื้อโรค กาวผึ้งทางทันตกรรมสามารถใช้ตัวกลางได้หลายรูปแบบรวมถึงในรูปน้ำยาบ้วนปาก โดย Ercan และคณะ [54] ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการลดดัชนีเหงือกอักเสบ (Gingival Index :GI) และ ดัชนีคราบจุลชีพ (Plaque Index :PI)ระหว่างการใช้น้ำยาบ้วนปากกาวผึ้ง หรือหมากฝรั่งที่ผสมกาวผึ้ง โดยกลุ่มน้ำยาบ้วนปากผสมกาวผึ้งให้บ้วนปากด้วยน้ำยาบ้วนปากวันละ 2 รอบ ส่วนกลุ่มหมากฝรั่งให้เคี้ยวหมากฝรั่งหลังมื้ออาหารวันละ 3 เวลาเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้น 5 วัน ก็ทำการวัดผล โดยพบว่ากลุ่มน้ำยาบ้วนปากมีค่า GI และ PI เฉลี่ยที่ 0.36 และ 0.99 ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มหมากฝรั่ง ได้ค่า 1.51 และ 1.61 ตามลำดับ จึงได้ข้อสรุปว่าการใช้น้ำยาบ้วนปากเป็นสื่อนำกาวผึ้งมีประสิทธิภาพมากกว่าหมากฝรั่งในการลดคราบจุลินทรีย์ และลดการอักเสบของเหงือก ในด้านการทดสอบในมนุษย์ มีการศึกษาผลของการบ้วนปากด้วยน้ำยาบ้วนปากสูตรผสมกาวผึ้งของ Pereira และคณะ [55] โดยการศึกษาดังกล่าวได้คัดเลือกอาสาสมัครที่มีค่าเฉลี่ย GI อย่างน้อย 1 และค่าเฉลี่ย PI อย่างน้อย 1.5 มาบ้วนน้ำยาบ้วนปากปลอดออลกอฮอล์ที่มีส่วนผสมของกาวผึ้งความเข้มข้น 5% โดยให้บ้วนทีละ 10 มิลลิลิตร วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที หลังจากบ้วนปาก พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 45 วัน กลุ่มที่ใช้กาวผึ้งบ้วนปากมีค่า GI และ PI ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 40% และ 24%

ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของกาวผึ้งที่สามารถนำมาใช้ในรูปแบบน้ำยาบ้วนปากต่อการลดการเกิดโรคปริทันต์โดยการดูจากค่าดัชนีทั้ง 2 ตัวได้

ด้วยฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย อนุมูลอิสระ และการอักเสบ ทำให้มีการประยุกต์ใช้กาวผึ้งทางทันตกรรมมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 12 โดยมีหลายผลิตภัณฑ์ที่ออกแบบมาโดยมีกาวผึ้งเป็นสารออกฤทธิ์ เช่น Comvita™ (นิวซีแลนด์), Grants™ (ออสเตรเลีย), Atomy™ (เกาหลีใต้) และ Propolinse™ (ญี่ปุ่น) เป็นต้น มีการศึกษามากมายที่พิสูจน์ความสามารถของกาวผึ้งในการลดการเกิดฟันผุโดยการออกฤทธิ์ต่อเชื้อก่อโรคฟันผุหลาย เช่น *Streptococcus mutans* ด้วยหลายกลไก ได้แก่ การยับยั้งเชื้อโดยตรง หรือ ยับยั้งการทำงานบางชนิด เช่น เอมไซม์ กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (Glucosyltransferase: GTF), F-ATPase, การสังเคราะห์กลูแคน (Glucan) ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญต่อการเกิด ไบโอฟิล์ม จึงทำให้นอกจากจะสามารถลดการเกิดฟันผุได้แล้วยังสามารถลดการสะสมคราบจุลินทรีย์อันเป็นจุดเริ่มต้นของโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบได้อีกด้วย การศึกษาของ Santiago และคณะ[56]ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากผสมกาวผึ้ง 2.6% (น้ำหนักต่อปริมาตร) กับน้ำยาบ้วนปากที่ผสมคลอร์เฮกซิดีน 0.12% เรื่องการลดคราบจุลินทรีย์พบว่าในระยะเวลาใช้ 14 วัน ให้ผลไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้กาวผึ้งในทางทันตกรรม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Ercan และคณะ[54] ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบถึงตัวกลางที่จะใช้นำกาวผึ้งสู่ช่องปากระหว่างเป็นรูปแบบหมากฝรั่งกับ น้ำยาบ้วนปาก ในเรื่องการลด Plaque index และ Gingival index พบว่า น้ำยาบ้วนปากมีความสามารถสูงกว่าในด้านการนำกาวผึ้งเข้าสู่ช่องปาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anauate Netto C[57] ที่ทำการทดสอบทางคลินิกเพื่อทดสอบเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* ในน้ำลายของผู้ที่มีปริมาณเชื้อดังกล่าวในน้ำลายมากกว่า 100,000 CFU/ml และมีฟันผุ 1 ด้านเป็นต้นไป ระหว่าง น้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน และน้ำยาบ้วนปากจากกาวผึ้ง ผลพบว่าน้ำยาบ้วนปากจากกาวผึ้งให้ผลลดปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* น้ำลายได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน อย่างมีนัยสำคัญที่ระยะเวลา 14 และ 28 วัน และดีกว่ากลุ่มยาหลอกในทุกช่วงเวลา นอกจากนี้ยังให้ผลคงค้างได้นานถึง 45 วัน ในการศึกษาดังกล่าวจึงได้สรุปว่าน้ำยาบ้วนปากจากกาวผึ้งสามารถลดปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีกว่ากลุ่มยาหลอก และน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีนที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

น้ำยาบ้วนปาก

น้ำยาบ้วนปากเป็นผลิตภัณฑ์เสริมทันตกรรมที่ออกแบบมาส่งเสริมสุขอนามัยของช่องปาก ปรากฏหลักฐานที่เก่าแก่ที่สุดจากประเทศจีนเมื่อประมาณ 2700 ปีการคริสตกาล ปัจจุบัน

น้ำยาบ้วนปากมีการใช้งานอย่างแพร่หลาย และมีหลายสูตรหลายยี่ห้อเพื่อหลายวัสดุประสงค์ จากการศึกษาของ Dominik [58] ที่มีการศึกษาน้ำยาบ้วนปากในโปแลนด์ถึง 241 ยี่ห้อในปี 2022 พบว่าองค์ประกอบของน้ำยาบ้วนปากโดยมากเป็นของผสมระหว่างน้ำและกลีเซอรีน ที่มีการใส่สารให้ความหวาน, สารลดแรงตึงผิว, สารกันบูด, สารแต่งสี และสารแต่งกลิ่นเข้ามาเพิ่มเติม ส่วนประกอบที่สำคัญที่เป็นตัวออกฤทธิ์ของน้ำยาบ้วนปาก คือ โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ช่วยป้องกันการเกิดฟันผุ และ น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อโรค ซึ่งโดยรวมทั้งหมดผู้ศึกษาได้จำแนกน้ำยาบ้วนปากออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ กับอีก 1 ประเภทย่อย ประเภทหลัก ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากเพื่อป้องกันโรค และเพื่อรักษาโรค ส่วนประเภทอื่น คือ น้ำยาบ้วนปากเพื่อผลหวังบรรเทาอาการบางอย่างโดยเฉพาะ เช่น น้ำยาบ้วนเพื่อฟันขาว ทั้งนี้บทบาทและหน้าที่ของน้ำยาบ้วนปากจะขึ้นกับส่วนผสมต่างๆ ที่ใช้ในการผสมน้ำยาขึ้นมา

ในปัจจุบันมีการใช้งานน้ำยาบ้วนปากอย่างแพร่หลาย น้ำยาบ้วนปากที่ได้รับความยอมรับและใช้งานเพื่อการรักษาชนิดหนึ่งคือ ยาน้ำบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของคลอร์เฮกซิดีน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (Bactericidal) อย่างกว้างขวางต่อเชื้อก่อโรคในช่องปากหลายชนิด รวมถึง *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphrymonas gingivalis* ด้วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่ยืนยันถึงผลของน้ำยาบ้วนปากที่สามารถป้องกันและควบคุมการเกิดคราบจุลินทรีย์ และโรคเหงือกอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพมีผลต่อความหลากหลายของเชื้อในช่องปาก และมีส่วนช่วยแก้ไขการเสียสมดุลจุลินทรีย์[59] แต่อย่างไรก็ตามยังข้อกังวลหลายเรื่องหากจะพิจารณาการใช้งานในระยะยาว เนื่องจากผลข้างเคียงของน้ำยาบ้วนปากชนิดนี้ เช่น การรับรสเพี้ยน, การติดสีบนฟัน นอกจากนี้ยังมีผลต่อเชื้อบางชนิดที่มีหน้าที่ต่อเฉพาะต่อสุขภาพของร่างกายอาจจะได้รับผลเสียด้วย เช่น *Veillonella, Actinomyces, Haemophilus, Rothia,* และ *Neisseria* ที่มีหน้าที่เปลี่ยนไนเตรด (Nitrate) จากการรับประทาน เป็น ไนไตรต์ (Nitrite) ซึ่งมีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด[60] จากที่กล่าวมาทำให้มีความพยายามพัฒนาน้ำยาบ้วนปากชนิดอื่นๆ ที่สามารถควบคุมเชื้อในช่องปากได้อย่างปลอดภัย และสามารถใช้ในระยะยาวได้อย่างไม่มีข้อกังวล

หนึ่งในน้ำยาบ้วนปากที่มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับคลอร์เฮกซิดีนคือ น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ซึ่งนอกจากจะปลอดผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์จากการบ้วน คลอร์เฮกซิดีนยังมีประสิทธิภาพในการลดดัชนีคราบจุลชีพ และดัชนีเหงือกอักเสบตามการศึกษาของ Harini[61] เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อเทียบกับน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดียังพบว่า มีประสิทธิภาพในการลดดัชนีคราบจุลชีพ ไม่แตกต่างจากคลอร์เฮกซิดีในขณะที่สามารถลดดัชนี

เหงือกอักเสบได้มากกว่าน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีนอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย จึงสามารถกล่าวได้ว่า น้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติกออกฤทธิ์ต่อเชื้อในช่องปาก อันเป็นผลดีต่อการสะสมคราบจุลินทรีย์ และโรคเหงือกอับเสบได้ โดยเชื่อกันว่ากลไกที่สำคัญคือการลดการยึดเกาะของเชื้อบนพื้นผิวต่างๆ , ยับยั่งการเจริญเติบโตของเชื้อ เป็นผลให้มีการเปลี่ยนโครงสร้างของไบโอฟิล์มในช่องปากให้มีความสามารถก่อโรคที่น้อยลง[62]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยด้านโพรไบไอติกจากการศึกษาของ Boonyarut[13] ศึกษาโพรไบโอติกที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในด้านการลดการผลิต TNF-α โดยพบว่าจุลินทรีย์จำนวนถึง 26 ชนิดมีฤทธิ์ลดการผลิต TNF-α ได้ 3 ชนิดที่สามารถยับยั้งการผลิต TNF-α ได้สูงที่สุด ได้แก่ *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1, *Lactobacillus casei* MSMC39-3 และ *Weissella confuse* MSMC57-1 โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดมาวิเคราะห์เพื่อหาองค์ประกอบที่สามารถออกฤทธิ์ได้ ด้วยการเตรียมจุลินทรีย์ในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ,จุลินทรีย์ที่ตายจากความร้อน, จุลินทรีย์ที่ทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียง และน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ จากการวิเคราะห์ดังกล่าวพบว่าน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ของ *Lactobacillus paracasei* (MSMC39-1) มีฤทธิ์ลดการผลิต TNF-α ได้

จากผลงานวิจัยดังกล่าว Banjonjit[14] จึงได้ศึกษาน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ต่อระดับการลดการอักเสบ โดยการนำมาประยุกต์ใช้เป็นน้ำล้างแผลประกอบการผ่าฟันกรามคุดล่าง เพื่อเปรียบเทียบระดับ TNF-α กับกลุ่มที่ใช้น้ำเกลือในการผ่าฟันคุด ปรากฏว่าให้ผลลัพธ์คือ สามารถลดระดับ TNF-α ในกลุ่มทดลองเมื่อเทียบกับการใช้น้ำเกลือล้างแผลแบบปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังสามารถลดอาการข้างเคียงจากการผ่าตัดได้แก่อาการเจ็บ บวม และอ้าปากได้น้อยได้อีกด้วย ผลการศึกษาของงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกในการลดการอักเสบในช่องปาก และศักยภาพในการพัฒนาโพรไบโอติกชนิดนี้เพื่อการรักษาภาวะอักเสบในช่องปากได้

จากผลการศึกษาดังกล่าว น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกมีฤทธิ์สามารถลดสารสื่ออักเสบ TNF-α ได้ จึงมีการศึกษาผลของการใช้สารชนิดอื่นร่วมกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกด้วย โดย Nisapa[20] ได้ศึกษาและพัฒนาน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบติกร่วมกับ CBD ซึ่งเป็นสารสกัดจากกัญชาที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางยืนยันถึงผลลดการอักเสบ โดยได้ทดสอบน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกและ CBD ลากหลายความเข้มข้นกับสายเซลล์โมโนไซต์ของ

มนุษย์ (human monocytic cell line) ที่ถูกกระตุ้นให้หลั่ง TNF-α ด้วย LPS พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบจากเลี้ยงโพรไบติกร่วมกับแคนนาบิไดออลสามารถลดปริมาณ TNF-α ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เมื่อพิจารณาเรื่องพิษต่อเซลล์ด้วย จากการศึกษาพบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรความเข้มข้นน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ร่วมกับ CBD 1% มีผลการทดสอบที่ดี และมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาต่อที่สุด

การศึกษาของ Suetrongtrakool[21] โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่มีผลการศึกษาถึงฤทธิ์ทางการแพทย์มายาวนาน คือ กาวผึ้ง ร่วมกับ CBD ที่มีผลการวิจัยจากการศึกษาที่ผ่านมา โดยมีกระบวนการคล้ายกับการศึกษาของ Nisapa[20] โดยทดสอบกับ Human monocytic cell line ที่กระตุ้นด้วย LPS เพื่อให้เกิดการหลั่ง TNF-α นอกจากนี้ยังทดสอบความเป็นพิษด้วยการศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์ (Cell viability) ด้วย MTT assay อีกด้วย ผลการศึกษาพบว่า น้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ที่ทำการศึกษาไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ตามมาตราฐาน ISO 10993-5 และ น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก, CBD และกาวผึ้งสูตรต่างๆ ล้วนมีประสิทธิภาพในการลดสารสื่ออักเสบ TNF-α ได้ 90% ขึ้นไปทั้งสิ้น โดยสูตรที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และกาวผึ้ง 5% ให้ผลการยับยั้งการหลั่ง TNF-α 93.8% ในขณะที่น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% , CBD 1% และกาวผึ้ง 5% ให้ผลการยับยั้ง 92.23%

ส่วนประกอบต่างๆ ของน้ำยาบ้วนปากทำการศึกษา ได้แก่ น้ำเลี้ยงไพรไบโอติก, CBD และกาวผึ้งนั้น นอกจากฤทธิ์ต้านการอักเสบแล้ว ทุกส่วนประกอบดังกล่าว เมื่อทำการทบทวนวรรณกรรมแล้ว พบว่าล้วนแล้วแต่มีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากด้วย แต่ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของทั้ง 3 ชนิดรวมกัน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่จะศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ประกอบด้วยน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก, CBD และ กาวผึ้งต่อเชื้อก่อโรคในช่องปาก ซึ่งในงานวิจัยนี้ ได้แก่ *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans* ผลของการศึกษานี้อาจจะบ่งบอกศักยภาพที่ยังไม่ถูกค้นพบของน้ำยาบ้วนปากสูตรนี้ และเพิ่มข้อบ่งใช้ของน้ำยาบ้วนปากให้กว้างขวางขึ้น

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการดำเนินงานเป็นขั้นตอนดังนี้

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
2. วัสดุและอุปกรณ์
3. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย
4. การเก็บข้อมูล
5. การวิเคราะห์ข้อมูล
6. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

เชื้อที่นำมาใช้ในการทดลองคือเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans* จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าเชื้อ *Streptococcus mutans* เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการสร้างโพลิเมอร์ไม่ละลายน้ำที่เรียกว่ากลูแคน ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ทำให้ ไบโอฟิล์ม สามารถยึดติดกับผิวฟันได้ จึงเป็นเชื้อที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการการเกิด ไบโอฟิล์ม อันเป็นแหล่งรวมของเชื้อโรค และสามารถทำให้เกิดโรคต่างๆ ในช่องปากได้ เช่นเดียวกับ *Candida albicans* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นชนิดหนึ่งที่มีแม้ในสภาวะปกติจะมิได้ก่อโรค แต่ก็มีส่วนในกระบวนการการเกิดไบโอฟิล์มร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ นำไปสู่ ภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์จนเกิดโรคต่างๆ ได้เช่นกัน

การศึกษานี้จึงนำเชื้อทั้งสองชนิดในฐานะตัวแทนของแบคทีเรียตั้งรกรากเริ่มต้น (Early colonizer) และเชื้อราที่เป็นเชื้อฉวยโอกาสในช่องปากมาศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกสูตรต่างๆ ในการต้านเชื้อก่อโรค

วัสดุและอุปกรณ์

1. เชื้อ *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1
2. เชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231
3. เชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 27175
4. CBD Oil 5% W/W (TNRBio, Thailand)
5. Bee Propolis Extract Powder, 30% Flavone Content (Ninelife, USA)

6. MRS broth (Oxoid™, UK)
7. กระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดกรอง 0.22 μm (Sigma,USA)
8. Disposable plastic plate
9. Sabouraud dextrose agar (Himedia™, India)
10. Sabouraud dextrose broth (Himedia™, India)
11. Brain heart infusion agar (Himedia™, India)
12. Brain heart infusion broth (Himedia™, India)
13. เครื่องวัดความเข้มแสง (spectrophotometer) (X-ma 1200V, Human, Korea)
14. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)
15. โพรพิลีนไกลคอล (Propylene glycol)
16. Sterile syringe filter 0.20 µm (CORNING, Corning Incorporated, Germany)

การเตรียมน้ำยาบ้วนปาก และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมน้ำยาบ้วนปาก

1.1 เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1

1.1.1 เตรียมโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1

เพาะเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ในอาหารเหลว MRS broth ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใน ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.1.2 แยกน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1

เพาะเลี้ยง *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่ อุณหภูมิ 37°C ในอาหารเหลว MRS broth เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาเจือจางในอาหารเหลว ให้ได้ปริมาณ 10^9 เซลล์/มิลลิลิตร และทำการเลี้ยงในสภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอีก 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยง (Supernatant) โดยนำไปกรองด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดกรอง 0.22 μm และเก็บรักษาไว้ ที่อุณภูมิ -20° C จนกว่าจะนำมาใช้

1.2 เตรียมกาวผึ้ง

1.2.1 เตรียมสารละลายกาวผึ้ง

นำกาวผึ้งมาละลายใน Propylene glyrol แล้วทำให้เข้ากันด้วยการ เขย่า สารละลายแบบวน (vortex) เพื่อให้กาวผึ้งละลายในตัวทำละลายให้ได้มากที่สุด

1.2.2 แยกตะกอน

เนื่องจากในกาวผึ้งมีส่วนประกอบหลายส่วนที่ไม่ละลายในตัวทำละลาย เช่น ขี้ผึ้ง ซึ่งไม่ใช้ส่วนที่ออกฤทธิ์ จึงต้องทำการแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยง ที่อุณหภูมิ 4 °C ด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

1.2.3 ทำให้ปลอดเชื้อ

ใช้หลอดฉีดยาปลอดเชื้อ ทำการแยกส่วนน้ำใสออกจากสารละลายที่ได้จากข้อ 1.2.2 ออกจากสารที่ตกตะกอนจากการปั่นเหวี่ยง ก่อนจะนำไปกรองด้วยตัวกรองหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาด 0.20 µm เพื่อทำให้กาวผึ้งปลอดเชื้อก่อนนำไปผสมทำน้ำยาบ้วนปากตามสูตร

1.3 **ผสมน้ำยาบ้วนปาก**

ส่วนประกอบ	ปริมาณในน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ (ml)				หน้าที่ของสาร
	1	2	3	4	
โซเดียม แซคคาริน 0.9%	0.33	0.33	0.33	0.33	สารแต่งรส
น้ำเลี้ยงโพรไอติก	1	1	1	1	สารออกฤทธิ์
กาวผึ้ง	-	0.5	-	0.5	สารออกฤทธิ์
แคนนาบิไดออล	-	-	0.1	0.1	สารออกฤทธิ์
น้ำเกลือ 0.9%	8.67	8.17	8.57	8.07	ตัวทำละลาย

ตาราง 1 ส่วนประกอบและปริมาณของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษานี้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 Brain heart infusion agar (BHI agar)

2.1.1 ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อที่อัตราส่วน 52 กรัม ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2.1.2 คนให้ละลายอย่างสมบูรณ์

2.1.3 นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2.1.4 ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 45-50 °C จึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2 Brain heart infusion broth (BJI broth)

2.2.1 ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อที่อัตราส่วน 37 กรัม ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2.2.2 คนให้ละลายอย่างสมบูรณ์

2.2.3 นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2.3 Sabouraud dextrose broth (SDB)

2.3.1 ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อที่อัตราส่วน 30 กรัม ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2.3.2 คนให้ละลายอย่างสมบูรณ์

2.3.3 นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2.4 Sabouraud dextrose agar (SDA)

2.4.1 ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อที่อัตราส่วน 37 กรัม ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2.4.2 คนให้ละลายอย่างสมบูรณ์

2.4.3 นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2.4.4 ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 45-50 °C จึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนแบ่งเป็น 6 ส่วน ได้แก่

1. **ศึกษากราฟเจริญเติบโตมาตรฐาน** (Standard growth curve)

เนื่องจากต้องการเชื้อที่มีกิจกรรมภายในเซลล์สูงที่สุด ซึ่งเป็นเชื้อที่กำลังอยู่ในช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Logarithm phase) จึงนำเชื้อทั้ง 2 ชนิดมาเพาะเลี้ยง และติดตามการเจริญเติบโตเพื่อวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนของเชื้อ และระบุระยะเวลาที่เชื้อแต่ละชนิดจะเข้าสู่ช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณ เมื่อทราบระยะเวลาดังกล่าว จะใช้ระยะเวลานั้นในการเพาะเชื้อประกอบการปรับปริมาณเชื้อด้วยค่าการดูดกลืนแสง (Optical density :OD) โดยการใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ก่อนการทดสอบแต่ละครั้งให้เท่ากัน โดยมีขั้นตอนดังนี้

1.1 นำเชื้อที่เก็บอยู่ในตู้เย็น -80 °C มาเลี้ยงในอาหารแข็ง

1.1.1 *Streptococcus mutans* ATCC 27175

ใช้ BHI (24 ชั่วโมง, 37 °C ที่ 5% CO_2)

1.1.2 *Candida albicans* ATCC 10231

ใช้ SDA (24 ชั่วโมง, 28 °C)

1.2 แยกโคโลนีจากอาหารแข็งมาเลี้ยงในอาหารเหลว

1.2.1 *Streptococcus mutans* ใช้ BHI Broth

1.2.2 *Candida albicans* ใช้ SDB

1.3 วัดค่า OD ที่ช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร ทุก 2 ชั่วโมงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

1.4 นำค่า OD มาสร้างกราฟเจริญเติบโตมาตรฐาน (OD-time)

2. **การเตรียมเชื้อ**

2.1 นำเชื้อที่เลี้ยงจาก 1.1 มาแยกโคโลนีและมาเลี้ยงในอาหารเหลว

2.2 เพาะเชื้อทั้ง 2 ตามระยะเวลาจากกราฟเจริญเติบโตมาตรฐานที่ได้

2.3 ปรับค่า OD ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600})

2.3.1 *Streptococcus mutans*: $OD_{600} = 0.07$ ($\approx 1.5 \times 10^8$ CFU/mL)

2.3.2 *Candida albicans*: $OD_{600} = 0.5$ ($\approx 2 \times 10^8$ CFU/mL)

3. **การทดสอบการสัมผัสโดยตรง** (Direct contact test)

3.1 เตรียมน้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร ตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบ ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ในหลอด centrifuge (centrifuge tube) ขนาด 1 มิลลิลิตร

3.2 ใส่เชื้อที่ปรับความขุ่นเชื้อ และเพาะเลี้ยงตามระยะเวลาให้เชื้ออยู่กลางช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณ หลอดละ 500 ไมโครลิตร มาเขย่าสารละลายแบบวนให้เข้ากัน แล้วนำเข้าตู้เพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 นาที

4. การนับเชื้อแบบมาตราฐาน (Standard plate count)

นำเชื้อที่ได้มาเจือจางต่อเนื่อง (Serial dilution) ครั้งละ 10 เท่า แล้วกระจายเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง จานละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกนับจำนวนโคโลนีจากเพลทที่มีโคโลนีขึ้น ระหว่าง 30-300 โคโลนี

5. การทดสอบตามช่วงเวลา

จากผลการทดสอบการสัมผัสโดยตรง นำสูตรที่ดีที่สุดเพียงสูตรเดียวมาทดลองต่อโดยการทดลองด้วยวิธีเดิม แต่เพิ่มชุดการทดลองจากเดิมที่ทดสอบเพียงระยะเวลาเดียว คือ 1 นาที เป็น 4 ระยะเวลา ได้แก่ 0 นาที, 1 นาที, 2 นาที และ 3 นาที

6. การนับเชื้อแบบมาตราฐาน

นำเชื้อที่ได้มาเจือจางต่อเนื่อง ครั้งละ 10 เท่า แล้วกระจายเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง จานละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงเลือกนับจำนวนโคโลนีจากเพลทที่มีโคโลนีขึ้น ระหว่าง 30-300 โคโลนีเช่นเดียวกับที่นับในการทดลองการทดสอบการสัมผัสโดยตรง

การเก็บข้อมูล

นับจำนวนโคโลนีและบันทึกผล นำค่าที่ได้จากการทดลองมาคำนวณเพื่อให้ได้ จำนวนโคโลนีในตัวอย่าง (CFU/ml)

การวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อได้ข้อมูลทั้งหมดแล้ว ก่อนทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ซึ่งเป็นสถิติเชิงพาราเมตริก ต้องทดสอบข้อตกลงเบื้องต้นของสถิติ ได้แก่ การแจกแจงข้อมูลปกติ ด้วยการทดสอบ Kolmogorov-Smirnov และ ความแปรปรวนข้อมูลไม่แตกต่างกัน โดยใช้การทดสอบ Levene's test หากมีการทดสอบใดให้ค่า *p-value* ที่ต่ำกว่าค่านัยสำคัญ (0.05) จะถือว่าละเมิดข้อตกลงเบื้องต้น และต้องใช้สถิติ Non-parametric คือ การทดสอบ Kruskal Wallis แต่หากทั้ง 2 ตัวมีค่า *p-value* สูงกว่า 0.05 จะสามารถเลือกใช้สถิติเชิงพาราเมตริก คือ One-way ANOVA ได้

การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดทำด้วยโปรแกรม GraphPad Prism เวอร์ชั่น 10.4.2 (663) (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้นำน้ำยาบ้วนปากทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ CBD 1%, น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ กาวผึ้ง 5% และน้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และกาวผึ้ง 5% มาทดสอบประสิทธิภาพกับเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *Candida albicans* และ *Streptococcus mutans* โดยมีตัวควบคุมเชิงบวก คือ น้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน 0.12% และตัวควบคุมลบ คือ น้ำเกลือ 0.9% โดยการทำการทดสอบการสัมผัสโดยตรงในห้องทดลองแล้ววัดจำนวนเชื้อที่เหลือโดยการทำการเจือจางต่อเนื่องเพื่อนับจำนวนโคโลนีเชื้อแล้วคำนวณให้ได้เป็นหน่วย CFU/ml โดยผลการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ กราฟเจริญเติบโตมาตรฐาน, การทดสอบการสัมผัสโดยตรงและ การทดสอบตามช่วงเวลา โดยได้ผลการทดลองดังนี้

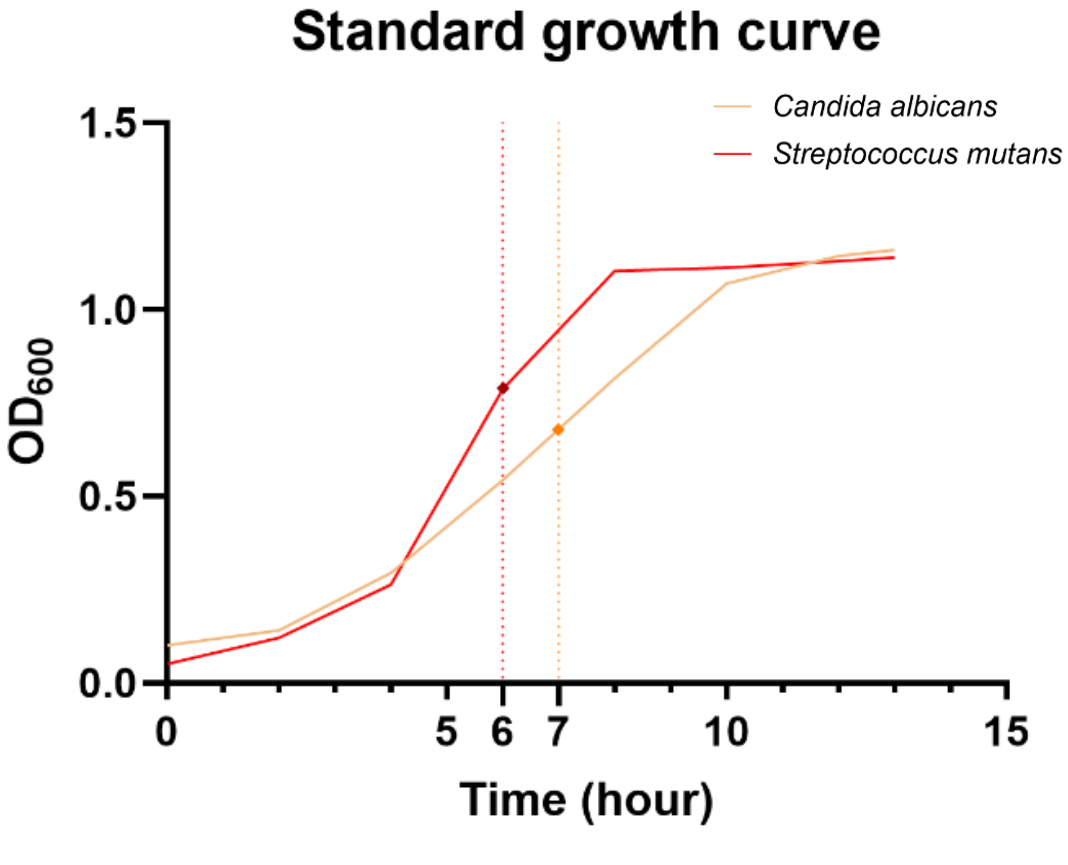
กราฟเจริญเติบโตมาตรฐาน

ผลการสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ สรุปผลได้ตามตาราง 2

ตาราง 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรของเชื้อทั้ง 2 ที่ช่วงเวลาต่างๆ

ครั้ง	เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง	
		Candida albicans ATCC 10231	*Streptococcus mutans* ATCC 27175
1	0	0.1	0.05
2	2	0.141	0.120
3	4	0.294	0.263
4	6	0.543	0.787
5	8	0.816	1.103
6	10	1.069	1.112
7	12	1.143	1.130
8	13	1.160	1.140

จากข้อมูลดังกล่าว สามารถนำมาแสดงเป็นกราฟค่าการดูดกลืนแสง-เวลา เพื่อหาระยะเวลาที่เชื้อเข้าสู่ช่วง Mid-log phase ได้ดังนี้



ภาพประกอบ 4 แสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสง-เวลา

จากกราฟดังกล่าว จะเห็นว่าระยะเวลาที่เชื้อจะเข้าสู่ในช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณ คือ ช่วงเวลาที่เชื้อมีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ จะเป็นช่วงที่กราฟค่าการดูดกลืนแสง-เวลา มีความชันมากที่สุดและเหมาะกับการนำเชื้อไปทำการทดลอง ซึ่งเมื่อพิจารณาจากกราฟข้างต้นแล้ว จะเห็นว่ากลางช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณของเชื้อ *Candida albicans* จะอยู่ที่ประมาณ 7 ชั่วโมง ในขณะที่เชื้อ *Streptococcus mutans* จะอยู่ที่ประมาณ 6 ชั่วโมง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง

น้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้ตามตารางดังนี้

ตาราง 3 แสดงความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร

สูตร	ค่า pH
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	4.28
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ CBD 1%	4.33
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และกาวผึ้ง 5%	4.36
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และกาวผึ้ง 5%	4.31

ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่ามีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน โดยสูตรที่มีค่า pH สูงสุด คือ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และกาวผึ้ง 5% ที่ pH = 4.36 และสูตรที่มีค่า pH ต่ำที่สุด คือ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% เพียงอย่างเดียว ที่ pH = 4.28

การทดสอบการสัมผัสโดยตรง

เมื่อทำการทดลองแล้ว จำนวนโคโลนีที่นับได้ และจำนวนครั้งที่ทำการเจือจาง (ตาราง ข และ ตาราง ค ในภาคผนวก) นำมาคำนวณเป็นปริมาณเชื้อในหน่วย CFU/ml ได้ดังตาราง 4

ตาราง 4 แสดงจำนวนโคโลนี (CFU/ml) หลังผ่านการทดสอบการสัมผัสโดยตรง

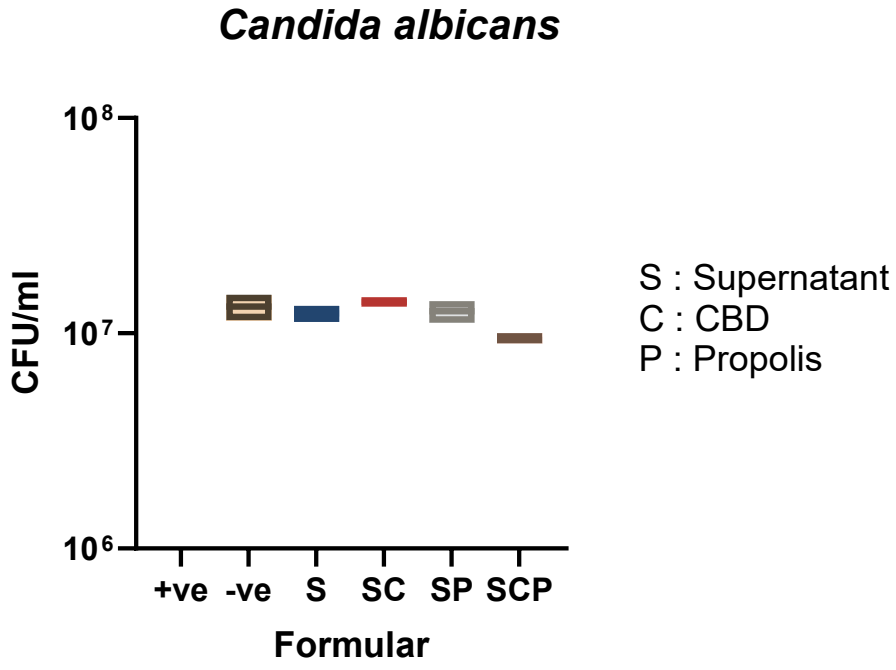
สูตร	จำนวนโคโลนี (CFU/ml)	
	*Candida albicans**	*Streptococcus mutans***
คลอร์เฮกซิดีน	0	0
น้ำเกลือ	1.33×10^7	2.57×10^8
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	1.24×10^7	3.61×10^8
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ CBD 1%	1.40×10^7	3.51×10^8
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ กาวผึ้ง 5%	1.27×10^7	3.14×10^8
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และ กาวผึ้ง 5%	9.30×10^6	1.95×10^8

* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *Candida albicans* $\approx 2 \times 10^7$ CFU/mL

** ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *Streptococcus mutans* $\approx 1.5 \times 10^8$ CFU/mL

การทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Candida albicans*

ผลทดสอบกับเชื้อ *Candida albicans* พบว่า เชื้อไม่เจริญเลยสำหรับตัวควบคุมบวก ส่วนน้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร มีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน และใกล้เคียงกับตัวควบคุมลบ โดยสูตรที่มีปริมาณเชื้อน้อยที่สุดใน 4 สูตร คือ สูตรเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และกาวผึ้ง 5% โดยข้อมูลปริมาณเชื้อของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ แสดงดังภาพประกอบ 5 เป็นกราฟกล่อง โดยขอบบนของกล่องคือค่าสูงสุด, ขอบล่างของกล่องคือค่าต่ำสุด และขีดตรงกลางคือค่าเฉลี่ย

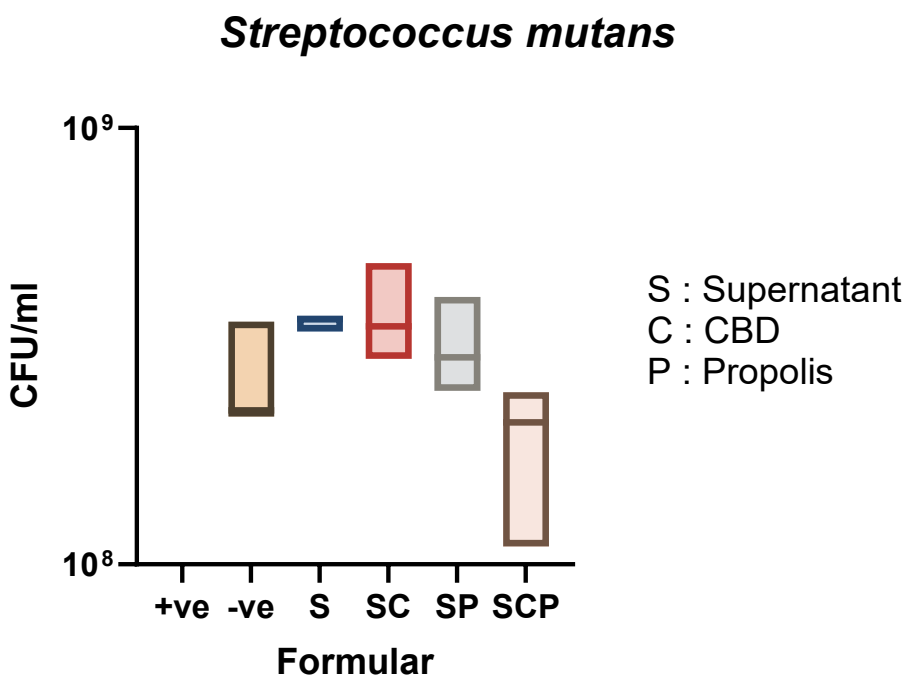


ภาพประกอบ 5 แสดงกราฟแสดงจำนวนโคโลนี *Candida albicans* ATCC 10231

เมื่อนำข้อมูลมาตรวจสอบข้อตกลงพื้นฐานการใช้สถิติพาราเมทริกด้วย Kolmogorov-Smirnov และ Levene's test แล้ว พบว่าข้อมูลทั้งของเชื้อ *Candida albicans* และ *Streptococcus mutans* ไม่ผ่านข้อตกลงดังกล่าว สถิติที่ใช้ คือ Kruskal Wallis พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (*p-value* = 0.0209) (ตาราง ฉ ในภาคผนวก) ด้วยผลการวิเคราะห์ดังกล่าว ทำให้ต้องทำการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple comparison) ต่อ โดยใช้การเปรียบเทียบพหุคูณของดันน์ (Dunn's multiple comparison) พบว่า ไม่มีคู่เปรียบเทียบคู่ใดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เลย (ตาราง ช ในภาคผนวก)

การทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Streptococcus mutans*

ผลทดสอบกับเชื้อ *Streptococcus mutans* พบว่า ไม่พบการเจริญของเชื้อสำหรับตัวควบคุมบวก ส่วนน้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร พบว่า ปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน แต่สามารถสังเกตแนวโน้มของปริมาณเชื้อได้ว่า น้ำยาบ้วนปากที่มีจำนวนส่วนผสมมากขึ้น (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก, CBD และกาวผึ้ง) จะยิ่งมีปริมาณเชื้อลดลง โดยน้ำยาบ้วนปากสูตรที่มีส่วนผสมชนิดเดียว คือ สูตรสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดที่ 3.61×10^8 CFU/ml ลำดับต่อมาคือน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสม 2 ชนิด คือ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% กับ CBD 1% และ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% กับ กาวผึ้ง 5% มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยลดหลั่นกันมา คือ 3.51×10^8 CFU/ml และ 3.14×10^8 CFU/ml ตามลำดับ ส่วนน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด คือ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และ กาวผึ้ง 5% มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 1.95×10^8 แนวโน้มดังกล่าวแสดงในภาพประกอบ 6 ซึ่งเป็นกราฟกล่อง โดยขอบบนของกล่องคือค่าสูงสุด, ขอบล่างของกล่องคือค่าต่ำสุด และขีดตรงกลางคือค่าเฉลี่ย



ภาพประกอบ 6 แสดงกราฟแสดงจำนวนโคโลนี *Streptococcus mutans* ATCC 27175

สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติสำหรับเชื้อ *Streptococcus mutans* นั้น จำเป็นต้องใช้สถิติ Kruskal Wallis เช่นเดียวกับเชื้อ *Candida albicans* ด้วยเหตุผลเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (*p-value* = 0.0030) (ตาราง ซ ในภาคผนวก) จึงทำการเปรียบเทียบพหุคูณของดันน์ต่อ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ระหว่างคู่เปรียบเทียบ 2 คู่ ได้แก่ ตัวควบคุมบวก ต่อ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% เพียงอย่างเดียว และ ตัวควบคุมบวก ต่อ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ CBD 1% (ตาราง ฌ ในภาคผนวก)

ถึงแม้ว่าเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว เชื้อทั้ง 2 ชนิด ไม่พบว่ามีน้ำยาบ้วนปากสูตรใดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตรอื่นๆ เมื่อนำผลการทดลองมาแสดงในกราฟดังภาพประกอบ 5 ก็พบว่า เชื้อ *Candida albicans* ไม่เห็นแนวโน้มการลดปริมาณเชื้อที่ชัดเจน แต่หากพิจารณาภาพประกอบ 6 จะเห็นว่าปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* มีแนวโน้มที่ลดลงที่สามารถสังเกตได้ชัดเจนขึ้น กล่าวได้ว่าน้ำยาบ้วนปากที่ทำการศึกษานี้มีแนวโน้มจะมีผลต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* มากกว่า *Candida albicans* โดยที่น้ำยาบ้วนปากที่มีศักยภาพในการลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดสำหรับเชื้อทั้ง 2 ชนิด คือ สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และกาวผึ้ง 5% ในการทดลองตอนต่อไปจึงได้ทำการเลือกน้ำยาบ้วนปากสูตรนี้เพื่อทำการทดสอบตามช่วงเวลากับเชื้อ *Streptococcus mutans* เพื่อทดสอบศักยภาพการต้านเชื้อต่อไป

การทดสอบตามช่วงเวลา

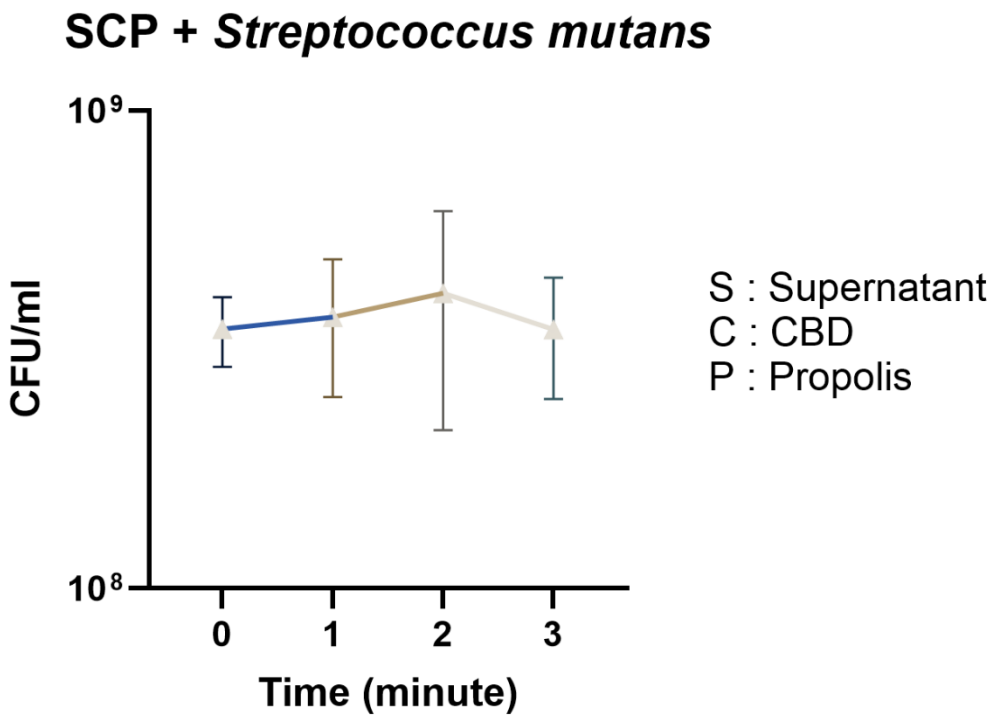
จากผลการทดสอบการสัมผัสโดยตรง พบว่า น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และกาวผึ้ง 5% สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีแนวโน้มว่าจะสามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ จึงเป็นผลให้การทดลองในตอนนี้เลือกทำการทดสอบน้ำยาบ้วนปากสูตรดังกล่าวกับเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่ 0,1,2 และ 3 นาที ผลการทดสอบ (ตาราง ง และตาราง จ ในภาคผนวก) นำมาคำนวณเป็น CFU/ml ได้ผลสรุปดังตาราง 5

ตาราง 5 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* (CFU/ml) ของแต่ละช่วงเวลาที่ทดลอง

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อเฉลี่ย (CFU/ml)
0	3.49×10^8
1	3.70×10^8
2	4.15×10^8
3	3.48×10^8

เชื้อ *Streptococcus mutans* เริ่มต้น ประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL

เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองมาสร้างกราฟ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน) เพื่อสังเกตแนวโน้มการเจริญเติบโตของเชื้อ (ภาพประกอบ 7) จะพบว่ามีแนวโน้มลดลง



ภาพประกอบ 7 แสดงจำนวนปริมาณเชื้อหลังทำการทดสอบตามช่วงเวลา

จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ โดยสถิติที่ใช้ คือ One-way ANOVA พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละช่วงเวลาที่ทดสอบ (ตาราง ญ ในภาคผนวก)

บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องเพื่อเติมเต็มช่องว่างที่เกิดจากการศึกษาหลายชิ้นจากศูนย์เพื่อความเป็นเลิศทางวิจัยด้านโพรไบโอติก ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาได้ทดสอบและพิสูจน์ฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ทั้งในห้องทดลองและในคลินิกมาแล้ว ในการศึกษานี้จึงเน้นไปที่การศึกษาสรรพคุณอื่นที่มีโยชน์ในการใช้งานจริง คือ ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อก่อโรคในช่องปาก โดยเชื้อก่อโรคที่เลือกมาทำการศึกษาคือ เชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans*

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยสถิติในการศึกษานี้มีประเด็นที่สามารถอภิปรายได้หลายประเด็น เริ่มจากการแปลผลข้อมูลการทดสอบการสัมผัสโดยตรง ซึ่งทำการทดสอบน้ำยาบ้วนปากทุกสูตรกับเชื้อทั้ง 2 ชนิดเป็นระยะเวลา 1 นาที ประเด็นแรกคือผลการวิเคราะห์สถิติ Kruskal Wallis พบว่า พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญอย่างมีนัยสำคัญสำหรับเชื้อทั้ง 2 ชนิด (*Candida albicans p-value* = 0.0209, *Streptococcus mutans p-value* = 0.0030) แต่เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบพหุคูณของดันน์กลับพบว่าเชื้อ *Candida albicans* กลับไม่พบถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเลย ในขณะที่เชื้อ *Streptococcus mutans* พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 2 คู่ ได้แก่ ตัวควบคุมบวกต่อน้ำยาบ้วนปากสูตรที่มีเพียงน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกปลอดเชื้อ และตัวควบคุมบวกต่อน้ำยาบ้วนปากสูตรที่มีน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกปลอดเชื้อและ CBD ทั้งที่หากพิจารณาข้อมูลดิบแล้ว ข้อมูลบางตัว เช่น ตัวควบคุมบวกซึ่งแสดงให้เห็นความแตกต่างจากข้อมูลอื่นอย่างชัดเจน ประเด็นสาเหตุที่ผลการวิเคราะห์สถิติออกมาเป็นเช่นนี้ สาเหตุหนึ่งอาจเป็นเพราะการเปรียบเทียบพหุคูณของข้อมูลจำนวนหลายกลุ่มทำให้มีการปรับค่า *p-value* ที่เข้มงวดมากขึ้น จึงทำให้ค่า *p-value* ที่ปรับแล้วของการเปรียบเทียบพหุคูณแต่ละคู่มีความแตกต่างจากผล Kruskal Wallis มากขึ้น ทั้งนี้การมีจำนวนกลุ่มทดลองมากควรขึ้นอยู่กับการออกแบบการทดลองมากกว่าเหตุผลทางสถิติ การแก้ไขและป้องกันเหตุการณ์เช่นนี้อาจทำได้โดยการเพิ่มจำนวนชุดการทดลองให้มากขึ้น ซึ่งอาจจะช่วยลดความแปรปรวนของข้อมูลลง หรืออาจจะทำให้ข้อมูลผ่านข้อตกลงเบื้องต้นสถิติพาราเมตริก และเพิ่มอำนาจทางสถิติมากขึ้น

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

สืบเนื่องจากผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบการสัมผัสโดยตรงที่แม้จะสามารถสังเกตแนวโน้มการลดลงของเชื้อได้ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญมากพอที่จะได้ข้อสรุปทางสถิติที่ชัดเจน สาเหตุหนึ่งที่เป็นไปได้ คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ 1 นาที อาจจะเป็นระยะเวลาที่สั้นเกินกว่าที่กลไกการต่อต้านเชื้อใดๆ จะสามารถออกฤทธิ์ได้เต็มประสิทธิภาพ แต่สาเหตุที่ต้องออกแบบการทดลองในลักษณะนี้ เป็นเพราะระยะเวลาที่แนะนำให้ผู้ใช้น้ำยาบ้วนปากทั่วไปใช้บ้วนคือประมาณ 30 วินาที ถึง 1 นาที และระยะเวลาที่ผู้ใช้งานจริงใช้บ้วนอาจจะต่ำกว่านั้น ดั่งการศึกษาของ Philip[63] ในออสเตรเลียเรื่องระยะเวลาที่ผู้ใช้น้ำยาบ้วนปากอมน้ำยาจริงๆ พบว่าระยะเวลาจริงนั้นจะยิ่งสั้นกว่านั้นมาก (ค่ามัธยฐาน = 17 วินาที) ดังนั้นถึงแม้ว่าการศึกษานี้ทำการทดสอบที่ระยะเวลาที่มากกว่านี้แล้วเห็นผลลัพธ์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ข้อมูลเหล่านั้นอาจจะไม่เป็นประโยชน์ในการนำมาใช้กับสถานการณ์การใช้งานน้ำยาบ้วนปากจริงได้เท่าที่ควร อย่างไรก็ตามน้ำยาบ้วนปากหลายชนิดในท้องตลาดพัฒนามาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมในการดูแลสุขภาพช่องปาก แตกต่างจากน้ำยาบ้วนปากในการศึกษานี้ที่มีเป้าหมายเพื่อลดการอักเสบ และต่อต้านการติดเชื้อซึ่งหวังผลการรักษาในฐานะยาที่สั่งโดยทันตแพทย์ หากมีการให้คำแนะนำ และกำกับจากทันตแพทย์อย่างเคร่งครัด อาจจะสามารถทำให้ผู้ใช้น้ำยาบ้วนปากอมน้ำยาได้ระยะเวลาที่เพียงพอและเหมาะสมเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดก็เป็นได้

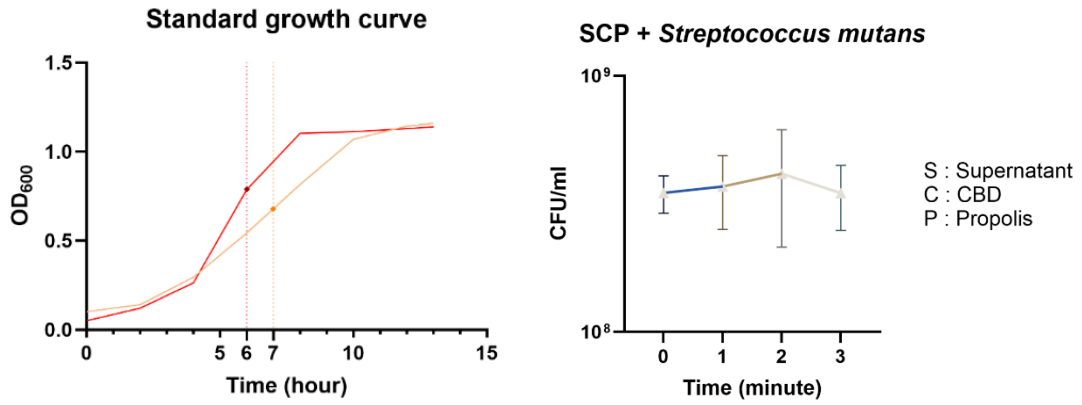
ข้อพิจารณาด้านชีวภาพ

การทดลองกับเชื้อก่อโรคนั้นมีปัจจัยมากมายเข้ามาเกี่ยวข้อง อาทิเช่น ธรรมชาติของเชื้อ, กลไลการฆ่า/ยับยั้งเชื้อ, สภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญเติบโต และความเข้มข้นของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการออกแบบการทดลองนี้ ผู้วิจัยได้อ้างอิงสูตรน้ำยาบ้วนปากที่ใช้ในการทดลองการศึกษาก่อนหน้า[14, 20, 21] ซึ่งเป็นสูตรที่มีการวิจัยและพัฒนาโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการลดสารสื่ออักเสบ TNF-α ภายในช่องปากเท่านั้น แต่ด้วยเหตุผลนี้อาจกลายเป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลการทดสอบไม่ครอบคลุมในกรณีที่การตอบสนองของเชื้อต่อส่วนประกอบใดๆ ในน้ำยาบ้วนปากเป็นแบบออกฤทธิ์ขึ้นกับความเข้มข้น (Concentration-dependent action) อย่างไรก็ตามการออกแบบการทดลองนี้ตอบสนองต่อวัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ การศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากต่อปริมาณเชื้อก่อโรค เพื่อศึกษาศักยภาพของน้ำยาบ้วนปากที่นอกจากจะสามารถลดการอักเสบได้แล้ว ยังสามารถลดปริมาณเชื้อได้ด้วย

การที่น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ทดลองนี้มีแนวโน้มสามารถลดปริมาณเชื้อได้ แต่ไม่รุนแรงเท่ากับตัวควบคุมบวกในการทดลอง ซึ่งคือ คลอร์เฮกซิดีน 0.12% ซึ่งเชื้อที่สัมผัสโดยตรงเป็นเวลา 1 นาทีตายทั้งหมด อาจจะเป็นข้อได้เปรียบของน้ำยาบ้วนปากสูตรนี้ เนื่องจากหากใช้งานน้ำยาบ้วนปากที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสูงเช่นนั้นในระยะยาวอาจทำให้เกิดผลเสียต่อเชื้อประจำถิ่น (Commensal species), ปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะ นำมาสู่ภาวะเสียสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์ภายในช่องปาก อันอาจเป็นเหตุนำไปสู่การเกิดโรคในช่องปากได้ น้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่นี้จึงอาจเป็นตัวเลือกที่ดีกว่าในการใช้งานในระยะยาวเพื่อลดการอักเสบภายในช่องปากโดยที่ไม่รบกวนสมดุลเชื้อภายในช่องปากได้

อีกหนึ่งข้อพิจารณาทางชีวภาพ คือ การทดลองในการศึกษานี้มีการจำลองให้เชื้อได้สัมผัสกับน้ำยาบ้วนปากโดยตรงเพียง 1 ครั้งเท่านั้น ซึ่งจะมีความแตกต่างจากการใช้งานจริงซึ่งจะมีคำแนะนำของทันตแพทย์ประกอบการใช้งานทำให้มีการใช้งานมากกว่านั้นตามที่ทันตแพทย์สั่ง ดังนั้นผลการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งบ่งชี้ว่าน้ำยาบ้วนปากนี้มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อก่อโรคได้ ถึงแม้จะยังไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจึงมากเพียงพอที่จะนำน้ำยาบ้วนปากเหล่านี้ไปทดสอบเพื่อการใช้งานจริงในผู้ป่วยในลำดับต่อๆ ไป

การออกแบบการทดลองที่มีการนำสูตรที่มีแนวโน้มลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุดมาทดสอบต่อเนื่องแบบ 3 ช่วงเวลาเพื่อศึกษาแนวโน้มการลดเชื้อเมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาที่เชื้อสัมผัสกับน้ำยาบ้วนปากมากขึ้น อีกทั้งยังเป็นการยืนยันผลการทดสอบของน้ำยาบ้วนปากว่ามีผลรบกวนเชื้อก่อโรคได้จริง ผลการทดสอบดังกล่าว ถึงแม้จะไม่พบว่าปริมาณเชื้อมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p-value* = 0.3483) แต่หากพิจารณาว่าเชื้อที่ใช้ในการทดลองนั้นเป็นเชื้อที่อยู่ในระยะกึ่งกลางของช่วงเจริญเติบโตแบบทวีคูณ กล่าวคือ เป็นระยะที่เชื้อจะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอย่างทวีคูณ จะพบว่า การเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* ถูกน้ำยาบ้วนปากรบกวนอย่างมาก แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มการเจริญเติบโตของเชื้อที่ลดลง ดังเปรียบเทียบในภาพ 8



ภาพประกอบ 8 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อปกติเทียบกับในน้ำยาบ้วนปาก

ในภาพประกอบ 8 แสดงข้อมูลแทนการเจริญเติบโตของเชื้อ แม้จะทำการเปรียบเทียบโดยตรงไม่ได้เนื่องจากมาตราวัดของกราฟทั้ง 2 ไม่เท่ากัน แต่สามารถสังเกตแนวโน้มของกราฟได้ โดยกราฟทางซ้ายคือกราฟเจริญเติบโตมาตรฐานของเชื้อทั้ง 2 ชนิด สังเกตว่าช่วงเวลาที่นำเชื้อมาใช้ แสดงในกราฟคือบริเวณที่ตัดกับเส้นประจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่กราฟด้านขวา คือกราฟจากผลการทดลองตามช่วงเวลา จะเห็นว่าที่ 3 นาทีปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับนาทีที่ 0 ข้อมูลนี้พิสูจน์ว่าน้ำยาบ้วนปากมีผลรบกวนการเจริญเติบโตของเชื้อจริง

การทดลองในการศึกษานี้ทำการทดลองกับเชื้อในรูปแบบที่ลอยตัวอิสระซึ่งไม่สามารถเลียนแบบสภาพจริงในช่องปากได้อย่างครบถ้วน เนื่องจากเชื้อก่อโรคในช่องปากโดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans* มักอยู่ในรูปไบโอฟิล์มที่มีความทนทานต่อสารฆ่าเชื้อสูงกว่าหลายเท่า โดยอาจออกแบบการศึกษาโดยการทดสอบน้ำยาบ้วนปากต่อไบโอฟิล์มเชื้อชนิดเดียว หรือ ไบโอฟิล์มเชื้อสองชนิด โดยเฉพาะไบโอฟิล์มที่จาก *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans*

ในการศึกษานี้พบว่าสูตรที่ให้ผลการศึกษาดีที่สุด คือ สูตรที่ประกอบด้วยน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก, CBD และกาวผึ้ง ซึ่งก็เป็นผลการทดลองที่สมเหตุสมผล เนื่องจากเป็นสูตรที่มีส่วนประกอบที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อมากที่สุด ถึงแม้ว่าการทดลองในการศึกษานี้จะไม่ได้ทดลองลึกถึงระดับโมเลกุลเพื่อศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อที่แน่นอนของน้ำยาบ้วนปาก ไม่ว่าผลที่สังเกตได้จะเป็นผลที่ส่วนประกอบต่างๆ ออกฤทธิ์แยกส่วนกัน หรือออกฤทธิ์เสริมกัน แต่จากการศึกษาส่วนประกอบต่างๆ พบว่า น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกประกอบด้วยสารชีวโมเลกุลกลุ่มหนึ่งที่เรียกรวมว่าแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)[64-66] , กรดอินทรีย์และเอนไซม์หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ ผ่าน

การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ และรบกวนกลไกการยึดเกาะของเชื้อ[64-66] เมื่อใช้ร่วมกับ CBD และกาวผึ้งที่ออกฤทธิ์ที่เยื้อหุ้มเซลล์เช่นกัน[39, 52, 67] อาจทำให้สารเหล่านี้ออกฤทธิ์เสริมกันได้ดีขึ้น และเหมาะกับการนำมาใช้ในช่องปากเพื่อการรักษามากขึ้น

ถึงแม้ว่าในการศึกษานี้จะไม่สามารถพิสูจน์ได้อย่างแน่ชัดว่า *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่ใช้ในการทดลองนี้จะเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตแบคเทอริโอซินหรือไม่ แต่ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์การต่อต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 27175 ซึ่งผลดังกล่าวมีความใกล้เคียงกับการศึกษาของ Teanpaisan[68] และคณะ ในปี 2011 ศึกษาฤทธิ์การต่อต้านเชื้อก่อโรคในช่องปาก (ซึ่งในการศึกษานี้คือเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 โดยทำการทดสอบในรูปแบบไบโอฟิล์ม) ของ *Lactobacillus* มากถึง 357 สายพันธุ์ ครอบคลุมกว่า 10 สปีชี่ ได้แก่ *Lactobacillus fermentum* (195 สายพันธุ์), *Lactobacillus salivarius* (53 สายพันธุ์), *Lactobacillus casei* (20 สายพันธุ์), *Lactobacillus gasseri* (18 สายพันธุ์), *Lactobacillus rhamnosus* (14 สายพันธุ์), *Lactobacillus paracasei* (12 สายพันธุ์), *Lactobacillus mucosae* (12 สายพันธุ์), *Lactobacillus oris* (12 สายพันธุ์), *Lactobacillus plantarum* (11 สายพันธุ์) และ *Lactobacillus vaginalis* (10 สายพันธุ์) และพบว่า เชื้อสายพันธุ์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุดคือ *Lactobacillus paracasei* SD1 และ *Lactobacillus fermentum* SD6 สอดคล้องกับผลการทดลองในการศึกษานี้โดย Teanpaisan ได้อภิปรายถึงการรายงานเกี่ยวกับสารต่อต้านแบคทีเรียที่น่าจะเกี่ยวข้องที่สุด คือ แบคเทอริโอซิน แต่อย่างไรก็ตาม เช่นเดียวกับการศึกษานี้ การศึกษาของ Teanpaisan ไม่ได้ศึกษาในระดับโมเลกุลเพื่อพิสูจน์ทราบสารที่เป็นตัวออกฤทธิ์หลัก

ด้วยสิ่งที่ Teanpaisan และคณะพบจากการทดลอง ต่อมา Wannun[69] ทำการสกัดสารที่เป็นตัวของฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงปลอดเซลล์ของ *Lactobacillus paracasei* SD1 พบว่า ส่วนที่ออกฤทธิ์มี มวลโมเลกุล 24,028.2 ดาตัน และได้ตั้งชื่อว่า Paracasin SD1 ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ในกลุ่มแบคเทอริโอซิน นอกจากนี้ยังทดสอบฤทธิ์ต่อเชื้อก่อโรคในช่องปากและพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปากได้หลายชนิด ได้แก่ *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus sobrinus* ATCC 33478, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 33384 รวมถึงเชื้อรา *Candida albicans* ATCC 90028 อีกด้วย โดยผลการทดสอบพบว่า Paracasin SD1 จะออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียกลุ่มกรัมบวกมากกว่ากรัมลบ และด้วยผลการศึกษานี้เองจึงเป็นการระบุสารออกฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียใน *Lactobacillus paracasei* SD1 ว่าเป็นสารในกลุ่มแบคเทอริโอซินอย่างเช่นที่ Teanpaisan ตั้งข้อสังเกตไว้

ความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาบ้วนปาก

น้ำยาบ้วนปากทุกสูตรมีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดออกมาได้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมีการวัดค่า pH ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ ดังตาราง 3 ที่แสดงให้เห็นว่าค่า pH ของน้ำยาบ้วนปากที่ใกล้เคียงกันที่ 4.28 – 4.36 ซึ่งบ่งชี้ว่าค่า pH อาจไม่ใช่ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อผลการยับยั้งเชื้อ ผลการศึกษานี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Rossoni[64] ที่ทำการศึกษาผลของกรดที่หลั่งจากเชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* ต่อ *Streptococcus mutans* โดยพบว่า *Lactobacillus* หลายสายพันธุ์มีการสร้างกรดที่ใกล้เคียงกันและมีค่า pH ที่ไม่ต่างแตกกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Lin[70] ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* ต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* พบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อบางสายพันธุ์เมื่อนำไปปรับค่า pH แล้วจะทำให้ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อหายไปด้วย โดย Lin ได้สรุปว่า ค่า pH ที่ต่ำมีผลต่อการยับยั้งเชื้อด้วย ทั้งนี้ไม่ว่าค่า pH จะมีผลอย่างไรต่อการยับยั้งเชื้อ แต่ในการศึกษานี้มีการเพิ่มองค์ประกอบออกฤทธิ์สำคัญอีก 2 ชนิด ได้แก่ กาวผึ้งและ CBD แล้วพบว่าปริมาณเชื้อลดจำนวนลด บ่งชี้ว่าองค์ประกอบดังกล่าวมีผลยับยั้งเชื้อได้

ถึงแม้ค่า pH ของน้ำยาบ้วนปากในการทดลองนี้จะต่ำกว่า 4.5 ซึ่งเป็นค่า pH ที่ทำให้ผิวเคลือบฟันเกิดการสูญเสียแร่ธาตุและนำไปสู่การเกิดฟันผุได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่ใช้กันทั่วไปในปัจจุบันนั้นจะพบว่ามีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน อ้างอิงจากการศึกษาของ B.W.M. van Swaaij และคณะ[71] ที่ทำการสำรวจน้ำยาบ้วนปาก 47 ผลิตภัณฑ์ พบว่ามีน้ำยาบ้วนปากถึง 20 ผลิตภัณฑ์ ที่มีค่า pH ต่ำกว่า 5.5 โดยคิดเป็น 43% จากน้ำยาบ้วนปากที่สำรวจ ทั้งนี้น้ำยาบ้วนปากบางสูตรอาจจงใจผลิตมาที่ค่า pH ที่ต่ำเนื่องจากในสภาพเป็นกรดอ่อนๆ เช่นนี้ จะส่งเสริมขบวนการการเปลี่ยนผลึก Hydroxyapatite (HA) เป็น Fluorapatite (FA) แต่ถึงเป็นเช่นนั้น จาก 20 ผลิตภัณฑ์ กลับมีเพียง 10 ผลิตภัณฑ์ที่มีฟลูออไรด์เป็นส่วนประกอบ สำหรับน้ำยาบ้วนปากในการศึกษานี้นั้น จริงอยู่ว่ามีค่า pH ที่ต่ำและอาจเป็นอันตรายต่อผิวเคลือบฟันได้ แต่เนื่องจากใช้เป็นระยะเวลาเพียงสั้นๆ คือ 1 นาที และยิ่งหากใช้หลังจากการแปรงฟันด้วยยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์แล้ว การใช้น้ำยาบ้วนปากที่เป็นกรดอ่อนในช่องปาก จะยิ่งส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงผลึกของเคลือบฟันเป็น FA ซึ่งมีความแข็งแรงมากกว่า เป็นการลดการเกิดฟันผุได้อีกทางหนึ่งอีกด้วย

ในการศึกษานี้พบว่าสูตรที่ให้ผลการศึกษาดีที่สุด คือ สูตรที่ประกอบด้วยน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก, CBD และกาวผึ้ง ซึ่งก็เป็นผลการทดลองที่สมเหตุสมผล เนื่องจากเป็นสูตรที่มีส่วนประกอบที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อมากที่สุด ถึงแม้ว่าการทดลองในการศึกษานี้จะไม่ได้ทดลองลึกถึงระดับโมเลกุลเพื่อศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อที่แน่นอนของน้ำยาบ้วนปาก ไม่ว่าผลที่สังเกตได้จะเป็น

ผลที่ส่วนประกอบต่างๆ ออกฤทธิ์แยกส่วนกัน หรือออกฤทธิ์เสริมกัน แต่จากการศึกษาส่วนประกอบต่างๆ พบว่า น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกประกอบด้วยสารชีวโมเลกุลกลุ่มหนึ่งที่เรียกรวมว่า แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)[64-66] , กรดอินทรีย์และเอนไซม์หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ ผ่านการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ และรบกวนกลไกการยึดเกาะของเชื้อ[64-66] เมื่อใช้ร่วมกับCBD และกาวผึ้งที่ออกฤทธิ์ที่เยื้อหุ้มเซลล์เช่นกัน[39, 52, 67] อาจทำให้สารเหล่านี้ออกฤทธิ์เสริมกันได้ดีขึ้น และเหมาะกับการนำมาใช้ในช่องปากเพื่อการรักษามากขึ้น จากเหตุผลที่กล่าวไปข้างต้นว่ากลไกที่คาดว่ามีความเป็นไปได้สูงที่สุดมีเป้าหมายที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ ซึ่งอธิบายผลการทดลองที่น้ำยาบ้วนปากมีผลต่อเชื้อ *Candida albicans* น้อยจนแทบหาความแตกต่างไม่ได้ เนื่องจากโครงสร้างของเชื้อที่มีผนังเซลล์ที่ซับซ้อน ประกอบด้วยกลูแคน, ไคติน และแมนโนโปรตีน ซึ่งทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงและเพิ่มความทนทานต่อสิ่งแวดล้อม เทียบกับ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ผนังเซลล์ประกอบด้วยเพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ซึ่งอาจถูกรบกวนจากน้ำยาบ้วนปากได้ง่ายกว่า ทั้งนี้หากพิจารณาปริมาณเชื้อ *Candida albicans* หลังสัมผัสโดยตรงกับน้ำยาบ้วนปากแล้ว จะพบแนวโน้มการลดลงของเชื้อเช่นเดียวกับ *Streptococcus mutans* คือ ลดลงตามจำนวนส่วนผสมสำคัญของน้ำยาบ้วนปาก แต่ระยะเวลา 1 นาทีอาจไม่มากพอจะทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงที่มากพอจะเห็นได้ชัด

ข้อเสนอแนะต่อการศึกษาในอนาคต

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากของน้ำยาบ้วนปาก ซึ่งยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ต้องการการศึกษาเพิ่มเติมก่อนจะสามารถผลิตไปใช้งานจริงได้ เช่น การทดสอบการสัมผัสโดยตรงซ้ำ, ความน่าพึงพอใจต่อรสและกลิ่นของผู้ป่วยต่อน้ำยาบ้วนปาก, ความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากในแง่ผลด้านการต้านเชื้อ, ระยะเวลาบ้วนที่เหมาะสมที่ผู้ป่วยยอมรับได้เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่น่าพึงพอใจ และสิ่งที่สำคัญที่สุดเพื่อให้การศึกษานี้และการศึกษาที่ผ่านมาเกิดประโยชน์อย่างแท้จริง คือ การทดสอบในคลินิกอันเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะพิสูจน์ผลลัพธ์ในห้องทดลอง และผลักดันให้น้ำยาบ้วนปากนี้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทันตแพทย์สามารถใช้บรรเทาโรคให้ผู้ป่วยได้

สรุปผลการวิจัย

ผลจากการทดลองน้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร กับ เชื้อ *Candida albicans* และ เชื้อ *Streptococcus mutans* พบว่า น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และ กาวผึ้ง 5% สามารถแสดงแนวโน้มการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดีกว่าเชื้อ *Candida albicans* และดีกว่าสูตรอื่นๆ ที่ระยะเวลาเพียง 1 นาที โดยถึงแม้จะยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลดังกล่าวยืนยันด้วยการทดลองตามช่วงเวลาที่พบว่ามีแนวโน้มการยับยั้งเชื้อ ซึ่งทำการทดลองแบบเดิมแต่เพิ่มระยะเวลาถึง 3 นาที ถึงแม้จะยังไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน แต่แนวโน้มจากผลการทดลองได้บ่งชี้ว่า น้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, CBD 1% และ กาวผึ้ง 5% มีศักยภาพที่จะพัฒนาไปใช้ในการรักษาจริงในผู้ป่วยได้ ทั้งนี้น้ำยาบ้วนปากสูตรนี้ ยังต้องการการศึกษาทดลองในคลินิกเพื่อพิสูจน์และยืนยันผลลัพธ์ในผู้ป่วยต่อไป

บรรณานุกรม

1. Chugh P, Dutt R, Sharma A, Bhagat N, Dhar MS. A critical appraisal of the effects of probiotics on oral health. J Funct Foods. 2020;70:103985.
2. Maier T. Oral microbiome in health and disease: maintaining a healthy, balanced ecosystem and reversing dysbiosis. Microorganisms. 2023;11(6):1453.
3. Huovinen P. Bacteriotherapy: the time has come. BMJ. 2001;323(7309):353-4.
4. Mohd Fuad AS, Amran NA, Nasruddin NS, Burhanudin NA, Dashper S, Arzmi MH. The mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics in oral cancer management. Probiotics Antimicrob Proteins. 2023;15(5):1298-311.
5. Homayouni Rad A, Pourjafar H, Mirzakhani E. A comprehensive review of the application of probiotics and postbiotics in oral health. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13.
6. Vincenzi A, Goettert MI, Volken de Souza CF. An evaluation of the effects of probiotics on tumoral necrosis factor (TNF-α) signaling and gene expression. Cytokine Growth Factor Rev. 2021;57:27-38.
7. Svensson I, Sjöström B, Haljamäe H. Assessment of pain experiences after elective surgery. J Pain Symptom Manage. 2000;20(3):193-201.
8. Veleska Stevkovska D. Cytokines (IL-1, TNF-α, IL-6) and oral surgery interventions. Balkan J Stomatol. 2010;14(3):124-32.
9. Larouche J, Sheoran S, Maruyama K, Martino MM. Immune regulation of skin wound healing: mechanisms and novel therapeutic targets. Adv Wound Care (New Rochelle). 2018;7(7):209-31.
10. Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. Biomolecules. 2021;11(5):700.
11. Ritsu M, Kawakami K, Kanno E, Tanno H, Ishii K, Imai Y, et al. Critical role of tumor necrosis factor-α in the early process of wound healing in skin. J Dermatol Dermatol Surg. 2017;21(1):14-9.
12. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) in autoimmune disease and current TNF-α Inhibitors

in therapeutics. Int J Mol Sci. 2021;22(5).

13. Ladda B, Theparee T, Chimchang J, Tanasupawat S, Taweechotipatr M. In vitro modulation of tumor necrosis factor α production in THP-1 cells by lactic acid bacteria isolated from healthy human infants. Anaerobe. 2015;33:109-16.
14. Banjonjit S, Taweechotipatr M, Rungsiyanont S. Effect of probiotic *Lactobacillus paracasei* on tumor necrosis factor-alpha level in gingival crevicular fluid of patients undergoing impacted third molar removal. J Oral Sci. 2022;64(3):185-9.
15. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent update on the anti-Inflammatory activities of propolis. Molecules. 2022;27(23):8473.
16. Nagarkatti P, Pandey R, Rieder SA, Hegde VL, Nagarkatti M. Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. Future Medicinal Chemistry. 2009;1(7):1333-49.
17. Zulhendri F, Felitti R, Fearnley J, Ravalia M. The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. J Oral Biosci. 2021;63(1):23-34.
18. Magro-Filho O, de Carvalho AC. Topical effect of propolis in the repair of sulcoplasties by the modified Kazanjian technique. Cytological and clinical evaluation. J Nihon Univ Sch Dent. 1994;36(2):102-11.
19. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W, Nedamat K. The current and potential application of medicinal cannabis products in dentistry. Dent J. 2021;9(9):106.
20. Nisapar N. Rungsiyanonte S, editor. The development of probiotic mouthwash formulation with cannabis extracts on the reduction of proinflammatory cytokine : TNF-alpha Level. The 13th Hatyai National and International Conference; Hatyai, Thailand. Hatyai University; 2022. 848-61.
21. Suetrongtrakool N, Taweechotipatr M, Rungsiyanonte S. Effectiveness of probiotic mouthwash containing cannabis extracts and propolis on the reduction of tumor necrosis factor-alpha inflammatory cytokine. Procedia Multidiscip Res. 2023;1(7).
22. Bintsis T. Foodborne pathogens. AIMS Microbiol. 2017;3(3):529-63.
23. Rajasekaran JJ, Krishnamurthy HK, Bosco J, Jayaraman V, Krishna K, Wang T, et al. Oral microbiome: a review of Its impact on oral and systemic health.

Microorganisms. 2024;12(9):1797.

24. Morrison AG, Sarkar S, Umar S, Lee STM, Thomas SM. The contribution of the human oral microbiome to oral disease: a review. Microorganisms. 2023;11(2):318.
25. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: unveiling the fundamentals. J Oral Maxillofac Pathol. 2019;23(1):122-8.
26. Murray PE, Coffman JA, Garcia-Godoy F. Oral pathogens' substantial burden on cancer, cardiovascular diseases, Alzheimer's, diabetes, and other systemic diseases: a public health crisis—a comprehensive review. Pathogens. 2024;13(12):1084.
27. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, et al. Oral diseases: a global public health challenge. Lancet. 2019;394(10194):249-60.
28. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr. 2019;7(1).
29. Salehi B, Kregiel D, Mahady G, Sharifi-Rad J, Martins N, Rodrigues CF. Management of *Streptococcus mutans-Candida* spp. oral biofilms' infections: paving the way for effective clinical interventions. J Clin Med. 2020;9(2):517.
30. Gulati M, Nobile CJ. Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes Infect. 2016;18(5):310-21.
31. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. Pathogens. 2020;9(7).
32. Bodke H, Jogdand S. Role of probiotics in human health. Cureus. 2022.
33. Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2016;13(9):508-16. 20160622.
34. Adamu BO, Lawley TD. Bacteriotherapy for the treatment of intestinal dysbiosis caused by *Clostridium difficile* infection. Curr Opin Microbiol. 2013;16(5):596-601.
35. Keeratikunakorn K, Kaewchomphunuch T, Kaeoket K, Ngamwongsatit N. Antimicrobial activity of cell free supernatants from probiotics inhibits against pathogenic bacteria isolated from fresh boar semen. Sci Rep. 2023;13(1):5995.

36. Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing. Wound Repair Regen. 2012;20(1):38-49.

37. Karas JA, Wong LJM, Paulin OKA, Mazeh AC, Hussein MH, Li J, et al. The antimicrobial activity of cannabinoids. Antibiotics. 2020;9(7):406.

38. Bruni N, Della Pepa C, Oliaro-Bosso S, Pessione E, Gastaldi D, Dosio F. Cannabinoid delivery systems for pain and inflammation treatment. Molecules. 2018;23(10):2478.

39. Barak T, Sharon E, Steinberg D, Feldman M, Sionov RV, Shalish M. Anti-bacterial effect of cannabidiol against the cariogenic *Streptococcus mutans* bacterium: an in vitro study. Int J Mol Sci. 2022;23(24).

40. David C, Elizalde-Hernández A, Barboza AS, Cardoso GC, Santos MBF, Moraes RR. Cannabidiol in dentistry: a scoping review. Dent J (Basel). 2022;10(10).

41. Pacher P, Kogan NM, Mechoulam R. Beyond THC and endocannabinoids. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2020;60(Volume 60, 2020):637-59.

42. van Klingeren B, ten Ham M. Antibacterial activity of Δ9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol. Antonie van Leeuwenhoek. 1976;42(1):9-12.

43. Feldman M, Sionov RV, Mechoulam R, Steinberg D. Anti-biofilm activity of cannabidiol against *Candida albicans*. Microorganisms. 2021;9(2). eng. 20210220.

44. Vasudevan K, Stahl V. Cannabinoids infused mouthwash products are as effective as chlorhexidine on inhibition of total-culturable bacterial content in dental plaque samples. J Cannabis Res. 2020;2(1):20.

45. Ossola CA, Surkin PN, Mohn CE, Elverdin JC, Fernández-Solari J. Anti-inflammatory and osteoprotective effects of cannabinoid-2 receptor agonist HU-308 in a rat model of lipopolysaccharide-induced periodontitis. J Periodontol. 2016;87(6):725-34.

46. Cagetti M, 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.

47. Brown R. Hive products: pollen, propolis and royal jelly. Bee World. 1989;70(3):109-17.

48. Šturm L, Ulrih NP. Advances in the propolis chemical composition between 2013 and 2018: a review. eFood. 2020;1(1):24-37.

49. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W. Historical aspects of propolis research in modern times. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013(1):964149.

50. Alves de Souza S, Camara CA, Monica Sarmento da Silva E, Silva TMS. Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) bees. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013(1):801383.

51. Zhang J, Shen X, Wang K, Cao X, Zhang C, Zheng H, et al. Antioxidant activities and molecular mechanisms of the ethanol extracts of *Baccharis* propolis and *Eucalyptus* propolis in RAW64.7 cells. Pharm Biol. 2016;54(10):2220-35.

52. Yuan J, Yuan W, Guo Y, Wu Q, Wang F, Xuan H. Anti-biofilm activities of Chinese poplar propolis essential oil against *Streptococcus mutans*. Nutrients. 2022;14(16).

53. Siqueira ABS, Rodriguez LRNdA, Santos RKB, Marinho RRB, Abreu S, Peixoto RF, et al. Antifungal activity of propolis against *Candida* species isolated from cases of chronic periodontitis. Braz Oral Res. 2015;29:1-6.

54. Ercan N, Erdemir EO, Ozkan SY, Hendek MK. The comparative effect of propolis in two different vehicles; mouthwash and chewing-gum on plaque accumulation and gingival inflammation. Eur J Dent. 2015;9(2):272-6.

55. Pereira EM, da Silva JL, Silva FF, De Luca MP, Ferreira EF, Lorentz TC, et al. Clinical evidence of the efficacy of a mouthwash containing propolis for the control of plaque and gingivitis: a phase II study. Evid Based Complement Alternat Med. 2011;2011:750249.

56. Hall BE, Zhang L, Sun ZJ, Utreras E, Prochazkova M, Cho A, et al. Conditional TNF-α overexpression in the tooth and alveolar bone results in painful pulpitis and osteitis. J Dent Res. 2016;95(2):188-95.

57. Anauate Netto C, Marcucci MC, Paulino N, Anido-Anido A, Amore R, de Mendonça S, et al. Effects of typified propolis on *mutans streptococci* and *lactobacilli*: a randomized clinical trial. Braz Dent Sci. 2013;16(2):31-6.

58. Radzki D, Wilhelm-Węglarz M, Pruska K, Kusiak A, Ordyniec-Kwaśnica I. A fresh look at mouthwashes-what is inside and what is it for? Int J Environ Res Public Health. 2022;19(7).

59. Prasad M, Patthi B, Singla A, Gupta R, Jankiram C, Kumar JK, et al. The clinical effectiveness of post-brushing rinsing in reducing plaque and gingivitis: a systematic review. J Clin Diagn Res. 2016;10(5):1-7.

60. Brookes Z, Teoh L, Cieplik F, Kumar P. Mouthwash effects on the oral microbiome: Are they good, bad, or balanced? Int Dent J. 2023;73:S74-S81.

61. Harini P, Anegundi R. Efficacy of a probiotic and chlorhexidine mouth rinses: A short-term clinical study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2010;28:179-82.

62. Noordin K, Kamin S. The effect of probiotic mouthrinse on plaque and gingival inflammation. Ann Dent Univ Malaya. 2007;14(1):19-25.

63. Phillips TR, Fairley C, Maddaford K, Trumpour S, Wigan R, Bradshaw C, et al. Duration of gargling and rinsing among frequent mouthwash users: a cross-sectional study. BMJ Open. 2020;10(9):e040754.

64. Rossoni RD, Velloso MDS, de Barros PP, de Alvarenga JA, Santos JDD, Santos Prado A, et al. Inhibitory effect of probiotic *Lactobacillus* supernatants from the oral cavity on *Streptococcus mutans* biofilms. Microb Pathog. 2018;123:361-7.

65. Wu CC, Lin CT, Wu CY, Peng WS, Lee MJ, Tsai YC. Inhibitory effect of *Lactobacillus salivarius* on *Streptococcus mutans* biofilm formation. Mol Oral Microbiol. 2015;30(1):16-26.

66. Cui Y, Zhang C, Wang Y, Shi J, Zhang L, Ding Z, et al. Class IIa bacteriocins: diversity and new developments. Int J Mol Sci. 2012;13(12):16668-707.

67. Sionov RV, Steinberg D. Anti-microbial activity of phytocannabinoids and endocannabinoids in the light of their physiological and pathophysiological roles. Biomedicines. 2022;10(3):631.

68. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral Lactobacillus against oral pathogens. Lett Appl Microbiol. 2011;53(4):452-9. eng. 20110825.

69. Wannun P, Piwat S, Teanpaisan R. Purification and characterization of bacteriocin

produced by oral Lactobacillus paracasei SD1. Anaerobe. 2014;27:17-21. eng. 20140315.

70. Lin X, Chen X, Chen Y, Jiang W, Chen H. The effect of five probiotic *Lactobacilli* strains on the growth and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. Oral Dis. 2015;21(1):e128-34.

71. van Swaaij BWM, Slot DE, Van der Weijden GA, Timmerman MF, Ruben J. Fluoride, pH value, and titratable acidity of commercially available mouthwashes. Int Dent J. 2024;74(2):260-7.

ภาคผนวก

ข้อมูลกราฟการเจริญเติบโตมาตรฐาน

กราฟเจริบเติบโตมาตรฐานสร้างขึ้นจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรของเชื้อทั้ง 2 ที่บันทึกจนกว่าการค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มการเพิ่มที่ลดลง ซึ่งแสดงถึงระยะคงตัวของการเจริญเติบโต (Stationary phase) โดยข้อมูลดังกล่าวแสดงในตาราง ก

ตาราง ก แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของ *Candida albicans* และ *Streptococcus mutans* ณ ช่วงเวลาต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

ครั้งที่	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{600})	
		Candida albicans	*Streptococcus mutans*
1	0	0.1	0.05
2	2	0.141	0.120
3	4	0.294	0.263
4	6	0.543	0.787
5	8	0.816	1.103
6	10	1.069	1.112
7	12	1.143	1.130
8	13	1.160	1.140

ข้อมูลการทดลองการสัมผัสโดยตรง

การทดลองการสัมผัสโดยตรงเก็บข้อมูลโดยการนับจำนวนโคโลนีที่สังเกตได้หลังจากทำการทดลองการสัมผัสเชื้อ *Candida albicans* และ *Streptococcus mutans* ข้อมูลจำนวนโคโลนีที่นับได้ดังกล่าว แสดงในตาราง ข และ ตาราง ค

ตาราง ข แสดงจำนวนโคโลนีที่นับได้หลังทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Candida albicans*

สูตร	เจือจาง (10^{-n})	จำนวนโคโลนี	
		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2
ตัวควบคุมบวก	0	0	0
ตัวควบคุมลบ	4	115	151
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	4	113	134
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ แคนนาบิไดออล 1%	4	133	147
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ กาวผึ้ง 5%	4	112	141
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% และ กาวผึ้ง 5%	4	90	92

ตาราง ค แสดงจำนวนโคโลนีที่นับได้หลังการทดสอบการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อ *Streptococcus mutans*

สูตร	จำนวนโคโลนี			
	เจือจาง : 5 (10^{-5})		เจือจาง : 6 (10^{-6})	
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4
ตัวควบคุมบวก	0	0	0	0
ตัวควบคุมลบ	218	231	22	36
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	342	371	36	37
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ แคนนาบิไดออล 1%	296	308	31	49
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และ กาวผึ้ง 5%	272	324	25	41
สูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% และ กาวผึ้ง 5%	213	248	11	21

ข้อมูลการทดสอบตามช่วงเวลา

เป็นการทดสอบการสัมผัสโดยตรงระหว่างเชื้อ *Streptococcus mutans* กับน้ำยาบ้วนปากสูตรน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% แคนนาบิไดออล 1% และ กาวผึ้ง 5% แต่ปรับช่วงเวลาจากเดิมที่ทดสอบเพียงระยะเวลาเดียว คือ 1 นาที เป็นทดสอบที่ 4 ระยะเวลา ได้แก่ 0, 1, 2 และ 3 นาที ข้อมูลจำนวนโคโลนีที่นับได้ดังกล่าว แสดงในตาราง ง และตาราง จ

ตาราง ง จำนวนโคโลนีที่นับได้หลังทดสอบตามช่วงเวลาที่ 0 นาที

สูตร	จำนวนโคโลนี					
	เจือจาง 5 รอบ (10^{-5})			เจือจาง 6 รอบ (10^{-6})		
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0 นาที	287	276	34	42	38	39

ตาราง จ จำนวนโคโลนีที่นับได้หลังทดสอบตามช่วงเวลาที่ 1, 2 และ 3 นาที

สูตร	จำนวนโคโลนีที่ความเจือจาง : 6 (10^{-6})					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
1 นาที	25	31	29	38	41	58
2 นาที	19	78	38	30	46	38
3 นาที	20	35	39	35	30	50

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติการทดสอบการสัมผัสโดยตรง

เชื้อ *Candida albicans*

ตาราง ฉ แสดงผลการวิเคราะห์สถิติ Kruskal-Wallis ของเชื้อ *Candida albicans*

Kruskal-Wallis test	
P value	0.0209
Exact or approximate P value?	Approximate
P value summary	*
Do the medians vary sig. (P < 0.05)?	Yes
Number of groups	6
Kruskal-Wallis statistic	13.27

ตาราง ช แสดงผล Dunn's multiple comparison ของเชื้อ *Candida albicans*

เชื้อ Streptococcus mutans

Dunn's multiple comparisons test	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
+ve vs. -ve	-11.00	No	ns	0.1073
+ve vs. S	-9.000	No	ns	0.4164
+ve vs. SC	-11.00	No	ns	0.1073
+ve vs. SP	-9.000	No	ns	0.4164
+ve vs. SCP	-4.000	No	ns	>0.9999
-ve vs. S	2.000	No	ns	>0.9999
-ve vs. SC	0.000	No	ns	>0.9999
-ve vs. SP	2.000	No	ns	>0.9999
-ve vs. SCP	7.000	No	ns	>0.9999
S vs. SC	-2.000	No	ns	>0.9999
S vs. SP	0.000	No	ns	>0.9999
S vs. SCP	5.000	No	ns	>0.9999
SC vs. SP	2.000	No	ns	>0.9999
SC vs. SCP	7.000	No	ns	>0.9999
SP vs. SCP	5.000	No	ns	>0.9999

ตาราง ซ แสดงผลการวิเคราะห์สถิติ Kruskal-Wallis ของเชื้อ *Streptococcus mutans*

Kruskal-Wallis test	
P value	0.0030
Exact or approximate P value?	Approximate
P value summary	*
Do the medians vary sig. (P < 0.05)?	Yes
Number of groups	6
Kruskal-Wallis statistic	17.93

ตาราง ฌ แสดงผล Dunn's multiple comparison ของเชื้อ *Streptococcus mutans*

Dunn's multiple comparisons test	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
+ve vs. -ve	-9.125	No	ns	>0.9999
+ve vs. S	-17.63	Yes	**	0.0062
+ve vs. SC	-14.75	Yes	*	0.0466
+ve vs. SP	-13.75	No	ns	0.0876
+ve vs. SCP	-4.750	No	ns	>0.9999
-ve vs. S	-8.500	No	ns	>0.9999
-ve vs. SC	-5.625	No	ns	>0.9999
-ve vs. SP	-4.625	No	ns	>0.9999
-ve vs. SCP	4.375	No	ns	>0.9999
S vs. SC	2.875	No	ns	>0.9999
S vs. SP	3.875	No	ns	>0.9999
S vs. SCP	12.88	No	ns	0.1477
SC vs. SP	1.000	No	ns	>0.9999
SC vs. SCP	10.00	No	ns	0.6748
SP vs. SCP	9.000	No	ns	>0.9999

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติการทดสอบตามช่วงเวลา

ตาราง ญ แสดงผลการวิเคราะห์สถิติ One-way ANOVA ของการทดสอบตามช่วงเวลา

ANOVA summary	
F	0.3483
P value	0.7907
P value summary	ns
Significant diff. among means (P < 0.05)?	No
R squared	0.04965

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล ณัฐพล เสรีเชษฐพงศ์

ผลงานตีพิมพ์ Sareechettapong N, Taweechotipatr M, Rungsiyanonte S. Effect of Various Probiotic Mouthwash Formulas on the Growth of Oral Pathogens. Oral Sciences Reports. 2025;1(69).p.xxx [online December 2025].