مطالعه اثر یک نوع ماست پروبیوتیک تولید ایران بر میزان استرپتوکوک موتانس بزاق

دکتر پیوند معینی[۱] دکتر نساء جامعی[۲ #] دکتر محمدرضا محمدی[۲] دکتر نسیم شفیع زاده[۱] مهندس ناصر ولایی[۳] دکتر محمد رهبر[۴] دکتر کیانوش خسروی[۵]

۱- استادیار بخش دندانپزشکی کودکان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران
۲- دندانپزشک
۳- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات تالاسمی،دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴- استاد بخش میکروبیولوژی آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی -تهران
۵- عضو هیئت علمی انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور –دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه تولید و مصرف محصولات حاوی عوامل پروبیوتیک رو به افزایش است. یکی از حامل‌های خوراکی رایج این عوامل ماست است.پتانسیل کاهش *استرپتوکوک موتانس* در حفره دهان بدنبال مصرف این نوع محصولات در سال‌های اخیر موضوع بسیاری از مطالعات گردیده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر یک نوع ماست پروبیوتیک داخلی و مقایسه آن با ماست معمولی بر روی میزان *استرپتوکوک‌های موتانس* بزاق می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی متقاطع دو سوکور انجام شد، ۳۰ دانشجوی دندانپزشکی شرکت کردند.میزان *استرپتوکوک موتانس* بزاق شرکت کنندگان در شروع کار و پس از طی هر سه دوره مداخله(مصرف ماست پروبیوتیک, ماست ساده و عدم مصرف این دو محصول) و **wash out** در محیط **mitis salivarius agar** اندازه‌گیری شد. سپس داده ها با آزمون آماری **kruskal wallis** از نظر کمی و آزمون **sign** از نظر کیفی آنالیز شدند.

یافته‌ها: در گروهی که ماست پروبیوتیک مصرف کردند میزان *استرپتوکوک موتانس* بزاق پس از دوره مداخله ۳ هفته ای به طور قابل توجهی کاهش نشان داد (**P<۰/۰۱**) اما در گروهی که ماست معمولی مصرف کردند پس از دوره مداخله میزان *استرپتوکوک موتانس* بزاق نشانگر افزایش قابل توجهی از نظر آماری بود (**P<۰/۰۱**). درگروه سوم (عدم مصرف دو ماده مربوطه) تغییر معنی داری در میزان استرپتوکک موتانس بزاق پس از طی این دوره نشان داده نشد(**P<۰/۹**).

نتیجه گیری: به نظر می رسد ماست پروبیوتیک توانایی کاهش تعداد *استرپتوکوک های موتانس* بزاق را دارد ولی این اثر ۲ هفته پس از عدم مصرف محصول متوقف می شود.

کلید واژه‌ها: پروبیوتیکها ، *استرپتوکوک موتانس* ، لبنیات، بزاقی ، تغذیه، پوسیدگی زا

وصول مقاله: ۹۱/۳/۸ اصلاح نهایی: ۹۱/۸/۱۲ پذیرش مقاله: ۹۲/۱/۱۵

مقدمه:

استرپتوکوک موتانس باکتری است که باعث آغاز روند معدنی زدایی مینا و در نتیجه آغاز روند پوسیدگی می‌شود.[۳-۱] در حال حاضر روش‌های مختلفی جهت پیشگیری از پوسیدگی دندانی از طریق کاهش این باکتری ارائه گردیده است، از جمله کاربرد مواد آنتی باکتریال مانند کلرهگزیدین، مداخله قندهایی چون زایلیتول با متابولیسم میکروبهاو غیره.[۴] امروزه استفاده از پروبیوتیک ها به عنوان روشی برای کاهش میزان *استرپتوکوک‌های موتانس* بزاق و متعاقبا پلاک دندانی به عنوان آغازگر روند پوسیدگی معرفی گردیده است. پروبیوتیک ها، نوعی مکمل غذایی هستند که از باکتری و یا قارچ هایی بالقوه مفید تشکیل شده اند.[۵] براساس تعریف مورد قبول سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی امریکا، پروبیوتیک ها عبارتند از :"میکروارگانیسم های زنده‌ای که اگر به مقادیر کافی مصرف شوند، ممکن است در زمینه ی حفظ سلامت میزبان خود واجد اثرات مفیدی باشند". این میکروارگانیسم ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی، شرایط نامناسبی را برای رشد

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر نساء جامعی، اهواز ، کیان آباد ، خیابان ۱۶ غربی ، پلاک ۹۱– تلفن : ۰۹۳۶۳۰۰۸۱۶۷ پست الکترونیک: nesa_jamei97@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

میکروارگانیسم های مضر ایجاد می‌کنند که بویژه در پیشگیری از عفونت‌های دستگاه گوارش نقش بسزایی دارند. گونه های Lactobacillusو Bifidobacteria به صورت وسیعی، بیشترین مصرف را به عنوان پروبیوتیک دارند. [۵،۶]

امروزه مطالعات بسیاری در رابطه با تاثیر انواع گونه های پروبیوتیک بر اکولوژی دهانی در حال گسترش است.[۶،۷] در تحقیق که Caglar و همکاران انجام دادند اثر استفاده کوتاه مدت پستانک های حاوی قرص دارای L.reuteri بعنوان عامل پروبیوتیک بر کاهش استرپتوکوک های موتانس بزاق نشان داده شد [۷] Cogulu وهمکاران نیز اثر مهار کنندگی گونه های مختلفی از باکتریهای پروبیوتیک علیه رشد استرپتوکوک موتانس بزاق را طی تحقیقی گوشزد کردند.[۸] در تحقیق دیگری تغییر معنی داری در میزان استرپتوکوک های موتانس بزاق پس از مصرف ماست حاوی L.paracasei بعنوان عامل پروبیوتیک مشاهده نشد.[۹] اما Caglar وهمکاران اثر استفاده کوتاه مدت بستنی حاوی یک گونه از پروبیوتیکها را در کاهش *استرپتوککهای موتانس* بزاق تایید کردند. [۱۰]

نظر به این تناقضات وکمبود اطلاعات در زمینه اثرات مصرف محصولات حاوی پروبیوتیک تهیه شده در داخل کشور بر سلامت دهان و دندان مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر یک نوع ماست پروبیوتیک تولید ایران حاوی دو نوع باکتری *Bifidobacterium lactis- Bb12* و *Lactobacillus acidophilus- La5* بر میزان *استرپتوکوک موتانس* بزاق در دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی در سال ۱۳۹۰ انجام شد.

مواد و روش ها:

مطالعه با طراحی کارآزمایی بالینی تصادفی متقاطع دو سوکور به مرحله اجرا گذاشته شد (ثبت در مرکز کارآزمایی بالینی ایران به شماره (IRCT2012090210715N1-) در ضمن طراحی مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی مورد تایید قرار گرفت.

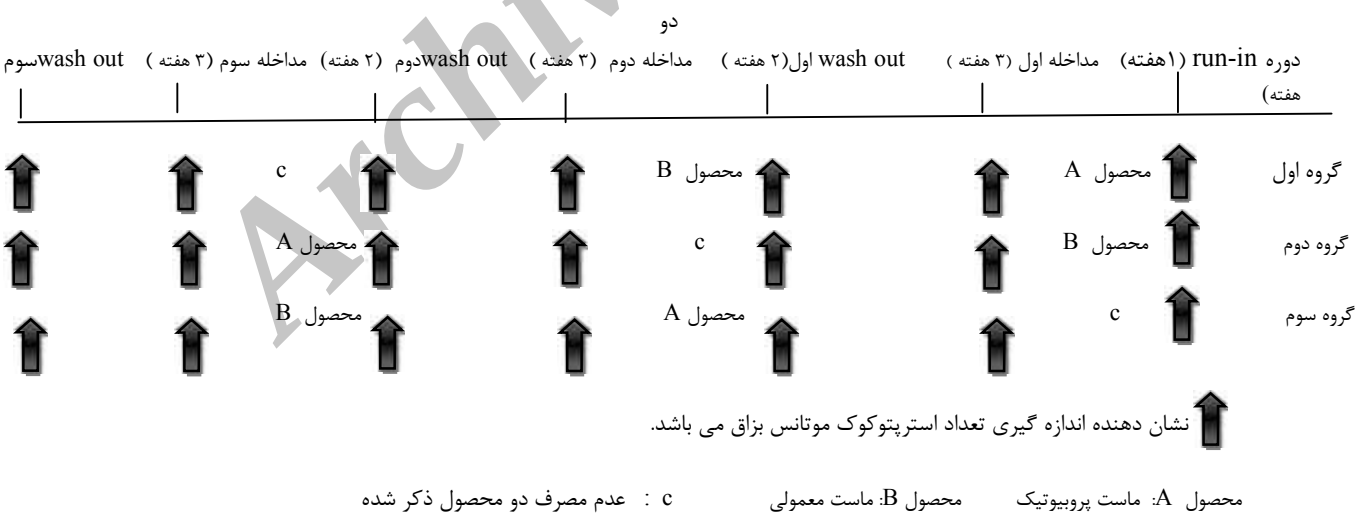
از بین افراد داوطلب با توجه به مطالعات مشابه، ۳۰ نفر دانشجوی دندانپزشکی که در سلامت کامل بودند پس از آگاهی از روند مطالعه و اخذ رضایت نامه کتبی در مطالعه وارد شدند.[۹،۱۰] مصرف کنندگان عادتی محصولات پروبیوتیک, آدامسهای حاوی زایلیتول، افراد سیگاری و زنان باردار یا مصرف‌کنندگان داروهای ضدبارداری خوراکی از مطالعه حذف شدند. از شرکت کنندگان خواسته شد از ۲ هفته قبل و در طول مطالعه آنتی بیوتیک و داروهای حاوی کورتون مصرف نکنند[۷]، از ۳هفته قبل و در طول مطالعه تحت فلورایند تراپی موضعی قرار نگیرند و دهانشویه آنتی باکتریال استفاده نکنند [۱۱] ، همچنین از یک هفته قبل ودر طول مطالعه هیچ نوع ماست و محصول پروبیوتیکی جز موارد تعیین شده درطی مطالعه مصرف نکنند. در ضمن از شرکت کنندگان خواسته شد روش و تعداد معمول دفعات مسواک زدن واستفاده از نخ دندان خود رادر طول مطالعه تغییر ندهند.[۱۲]

در ابتدای مطالعه تعداد *استرپتوکوک موتانس* پایه بزاق افراد توسط کشت در محیط Mitis Salivarius Agar (HIMEDIA- India) تعیین شد. در ابتدای هر هفته از دوره مداخله میزان ۱۴۰۰ سی سی از محصول مورد نظر در ظرف های مشابه که با کد بندی A و B مشخص شده بود به همراه یک ظرف مدرج ۲۰۰ سی سی, در اختیار شرکت کنندگان مطالعه که به طور تصادفی در سه گروه ۱۰ نفری(اول – دوم – سوم)جای گرفته بودند قرار گرفت [۸] ظروف با کد بندی A حاوی ماست پروبیوتیک (شرکت پگاه) و ظروف با کد بندی B حاوی ماست معمولی(شرکت پگاه) بود. از شرکت کنندگان خواسته شد که روزانه ۲۰۰ سی سی از محصول را ۱۰ دقیقه پس از شام مصرف کنند و تا یک ساعت پس از مصرف محصولات مربوطه مسواک نزنند [۸،۱۲]. گروه سوم در طی دوره مداخله هیچ یک از مواد مورد مطالعه را مصرف نمی‌کردند . محصولات ذکر شده از نمایندگی شرکت به صورت هفتگی با تاریخ تولید یکسان خریداری می‌شد. تاریخ تولید تمامی محصولات یک روز قبل از تحویل آنها از نمایندگی بود.ماست معمولی و پروبیوتیک تهیه شده از نظر درصد چربی،

Archive of SID
www.SID.ir

پروتئین و نوع استارتر و سایرموارد مشابه بودند و تنها تفاوت آنها وجود باکتری‌های پروبیوتیک درماست پروبیوتیک بود.

شرکت کنندگان قبل از شروع ویک روز پس از اتمام هر دوره مداخله (۳ هفته) [۸] برای اندازه گیری استرپتوکوک موتانس بزاق توسط روش کشت در ساعت مشابهی از روز(۹-۸ صبح) جهت حفظ سیکل Circadian و توسط یک عمل کننده واحد نمونه گیری می شدند. افراد مورد بررسی قبل از نمونه گیری باید صبحانه مصرف می کردند و صبح روز نمونه گیری دندان های خود را مسواک نمی زدند. بدین ترتیب پس از هر دوره مداخله (۳ هفته) و هر دوره wash out (۲هفته) از بزاق غیر تحریکی داوطلبین نمونه گیری به عمل می‌آمد. (نمودار ۱) نمونه ها در فاصله زمانی انتقال به آزمایشگاه (حداکثر ۳ ساعت) در محفظه حاوی یخ نگهداری می‌شدند و بلافاصله بعد از ارسال به آزمایشگاه توسط یک عمل کننده که ضریب توافق درونی۹۵/. را طی دو بار اندازه‌گیری در مطالعه آزمایشی نشان داده بود, تحت آزمایشات میکروبیولوژی قرار می‌گرفتند. برای کشت استرپتوکوک موتانس ابتدا نمونه های بزاق روی محیط salivarius agar Mitis (HIMEDIA- India) کشت داده شده ، سپس پلیت ها درون انکوباتور co2 (INComed –Memert. co –Heilbron- Germany) به مدت ۴۸ ساعت انکوبه می شدند. سپس پلیت ها خارج شده و کلنی‌های استرپتوکوک موتانس شناسایی می شدند. به این ترتیب که ابتدا از کلنی‌های رشد کرده روی محیط نامبرده لام گرم تهیه می شد، سپس کلنی های گرم مثبت (کوکسی) انتخاب شده و برای آنها تست کاتالاز انجام می شد.کوکسی های گرم مثبت کاتالاز منفی در نهایت کلنی هایی بودند که تحت تست بیوشیمیایی قرار می گرفتند، بطوری که مجددا به مدت ۲۴ ساعت دردمای ۳۵درجه سانتی‌گراد و داخل انکوباتور co2 انکوبه می شدند، پس از گذشت زمان مذکور مورد بررسی مجدد قرارگرفته وکلنی هایی که manitol مثبت،sorbitol مثبت ، vogues-proskauer مثبت ، argeninieمنفی ،blie esculin مثبت و urea منفی بودند کلنی های مورد نظر بودند که در نهایت پس از شناسایی، اقدام به شمارش آنها می گردید (بر مبنای واحد تعداد کلنی های فرم گرفته در میلی لیتر CFU/ml) . سپس تغییرات استرپتوکوک موتانس بزاق در داخل هر گروه با آزمون آماری sign test و بین ۳ گروه با آزمون آماری Kruskal wallis مورد قضاوت آماری قرار گرفت.



نمودار ۱ -دیاگرام دوره های مداخله و wash out

Archive of SID
www.SID.ir

یافته ها:

تحقیق بر روی ۳۰ دانشجوی دندانپزشکی (۱۶ زن و ۱۴ مرد) با متوسط سنی ۱/۴± ۲۴/۷ سال انجام گرفت. متوسط میزان **DMFT** شرکت کنندگان۳ ± ۵/۲ تعیین شد.

در گروهی که ماست پروبیوتیک مصرف کردند، در ۱۸ نفر(۶۰ درصد) تعداد *استرپتوکوک موتانس* بزاق کم شده بود درحالیکه در ۷نفر (۲۳/۳ درصد) بدون تغییر مانده و در ۵ نفر (۱۶/۷ درصد) افزایش یافته بود . آزمون **Sign** نشان داد که این کاهش به لحاظ آماری معنی دار است (**P**<۰/۰۱).

در گروهی که ماست معمولی مصرف کردند، در ۷ نفر (۲۳/۳ درصد) تعداد *استرپتوکوک موتانس* بزاق کم شده بود، در ۳ نفر (۱۰ درصد) بدون تغییر بوده و در ۲۰ نفر (۶۶/۷ درصد) افزایش یافته بود . آزمون Sign نشان داد که این افزایش به لحاظ آماری معنی دار است (**P**<۰/۰۱)

درگروهی که هیچ از محصولات مورد بررسی را مصرف نکرده بودند ، در ۱۲ نفر (۴۰ درصد) تعداد *استرپتوکوک موتانس* بزاق کم شده بود، در ۵ نفر (۱۶/۷ درصد) بدون تغییر بوده و در ۱۳ نفر (۴۳/۳ درصد) افزایش یافته بود. آزمون Sign نشان داد که این تغییرات به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد (**P**<۰/۹).

جدول ۱-توزیع افراد مورد بررسی بر حسب تغییرات *استرپتوکوک موتانس* بزاق به تفکیک ماست ها

باکتری استرپتوکوک موتانس / ماست	کاهش یافته تعداد (درصد)	تغییر نکرده تعداد (درصد)	افزایش یافته تعداد (درصد)	جمع تعداد (درصد)
نگرفته (شاهد ۱)	۱۲(۴۰)	۵(۱۶/۷)	۱۳(۴۳/۳)	۳۰(۱۰۰)
معمولی(شاهد ۲)	۷(۲۳/۳)	۳(۱۰)	۲۰(۶۶/۷)	۳۰(۱۰۰)
پروبیوتیک(تجربی)	۱۸(۶۰)	۷(۲۳/۳)	۵(۱۶/۷)	۳۰(۱۰۰)

جدول ۲ نشان می دهد که تعداد *استرپتوکوک موتانس* پایه بزاق در سه گروه مشابه بوده و اختلاف آنها به لحاظ آماری معنی دار نیست و رتبه بدیل تعداد باکتری در گروه ماست پروبیوتیک ۳۲/۹±۲۱/۳ ، در گروه ماست معمولی ۵۴/۳±۲۳/۵ ودرگروهی که ماست مصرف نکردند ۴۶/۳±۲۷/۸ بود. آزمون kruskal wallis نشان داد گروه ماست پروبیوتیک نسبت به گروه بدون مصرف ماست به میزان ۲۸/۹ درصد کاهش درتعداد *استرپتوکک موتانس* بزاق و نسبت به گروه ماست معمولی ۳۹/۴ درصد کاهش نشان داد که هر دوکاهش به لحاظ آماری معنی دار بود. (**P**<۰/۰۱) اما تفاوت رتبه تعداد باکتری مربوطه در گروه بدون مصرف ماست نسبت به گروه مصرف کننده ماست معمولی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. ضمنا درگروه تجربی دریافت کننده ماست پروبیوتیک پس از طی دوره **wash out** دو هفته ای متوسط تعداد *استرپتوککهای موتانس* بزاق از ۲۸/۱±۱۹/۹به ۳۳/۸±۲۶/۸رسید که این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار نمی باشد.

جدول ۲ - میزان *استرپتوکوک موتانس* بزاق افراد بر حسب CFU/ml در گروه های مورد مطالعه "ارقام به یک هزارم CFU/ml تبدیل شده اند."

مراحل / ماست	قبل	بعد	تغییرات
نخورده	۳۱/۴±۳۳/۵	۲۷/۶±۳۴	۵/۳±۳۳
معمولی	۲۹±۳۴/۱	۳۴/۲±۳۱	*۴±۶۵/۷
پروبیوتیک	۲۸/۴±۳۲	۱۸±۲۷/۱	*۱۰/۵۳±۳۱/۳

Significant (p<0.05)*

با توجه به اینکه تحویل محصولات در مطالعه حاضر به صورت هفتگی بود، در این مطالعه شمارش باکتری های پروبیوتیک موجود در محصول در طی ۷ روز متوالی و طبق روش مورد استفاده در تحقیقات قبلی [۱۳،۱۴] انجام شد.کاهش تدریجی غلظت باکتری‌های پروبیوتیک موجود در محصول پروبیوتیک مورد مطالعه، از روز اول تا روز هفتم رخ داد. باکتری‌های پروبیوتیک موجود در ماست مورد بررسی عبارت بودند از باکتری *Lactobacillus Acidophilus-La5* که در روز اول غلظت ۲×۱۰^۷ ***CFU/ml*** را داشت که این غلظت از روز اول تا هفتم به تدریج کاهش یافت و در روز هفتم به ۱/۲×۱۰^۶CFU/ml رسید و باکتری *Bifidobacterium lactis- Bb12* که در روز اول غلظت ۲/۵×۱۰^۷ ***CFU/ml*** را داشت و در روز هفتم غلظت آن به ۱/۲×۱۰^۵ ***CFU/ml*** رسید.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث:

این تحقیق نشان داد که مصرف ماست پروبیوتیک موجب کاهش در تعداد استرپتوکک موتانس بزاق نسبت به مصرف ماست معمولی و عدم مصرف هر دو محصول می‌شود. درضمن مصرف ماست معمولی موجب افزایش تعداد *استرپتوکک موتانس* بزاق حتی بیشتر از دوره‌ای که افراد هیچیک از محصولات رامصرف نکرده بودند شد. بعلاوه در این مطالعه تدوام کاهش تعداد *استرپتوکک موتانس* بزاق درگروه تجربی مصرف کنندگان ماست پروبیوتیک پس از طی ۲ هفته wash outمشاهده نشد.

نتایج این مطالعه در زمینه تاثیر محصولات حاوی پروبیوتیک در جهت کاهش تعداد *استرپتوککهای موتانس* بزاق مشابه بسیاری از مطالعات دیگر بالینی و آزمایشگاهی در این زمینه می باشد[۷،۸،۱۰،۱۲ ،۱۵-۲۱]

اما در مطالعه ای که توسط Chuang و همکاران انجام گرفت، نتایج نشان داد که مصرف قرص های حاوی Lactobacillus paracaseiتاثیری بر روی کاهش تعداد استرپتوکوکهای موتانس بزاق نداشته است. مولفین ذکر می‌کنند که شاید غلظت و یا نوع حامل پروبیوتیک برای مهار*استرپتوککهای موتانس* بزاق مناسب نبوده است.[۹] از دلایل محتمل تفاوت در نتایج این مطالعه با مطالعه حاضررا می توان علاوه بر تفاوت در نوع طراحی مطالعه که می تواند سبب تاثیر عوامل مداخله گر بسیاری شود، استفاده از گونه های متفاوتی از باکتری‌های پروبیوتیک و یا مدت زمان کوتاهتر مصرف محصولات حاوی پروبیوتیک (۲ هفته) را برشمرد.

Marttinenو همکاران نیز از مطالعه خود نتیجه گرفتند که مصرف دو هفته ای دو نوع قرص یکی حاوی Lactobacillus rhamnosus GG(LGG)و دیگری حاویLactobacillus reuteri تاثیری در میزان *استرپتوکوک موتانس* پلاک دندانی افراد ندارد [۲۲] تفاوت این مطالعه با مطالعه حاضرعلاوه بر نوع گونه و غلظت پروبیوتیک مصرفی، شامل تفاوت در طول دوره مصرف محصول مربوطه (۲ هفته) و نوع حامل پروبیوتیک (قرص) می‌باشد. بعلاوه تغییرات تعداد کلنی‌های *استرپتوکک موتانس* در این مطالعه در پلاک دندانی مورد ارزیابی قرارگرفته است Petti و همکاران ذکر می کنند شدت نوسانات شمارش میکروبیال در بزاق کمتر از پلاک دندانی است.[۲۳]

در هردو مطالعه مذکورحامل باکتریهای پروبیوتیک مورد استفاده قرص هستند. باکتری ها در قرص به شکل لیوفیلیزه (باکتری خشک شده در خلاء که برای افزایش عمر بصورت منجمد نگهداری می شود) می‌باشند، لذا برای فعالیت و تبدیل به فرم رویشی زمان و محیط کشت غنی شده ضروری است و به لحاظ فیزیولوژی باکتری در قرص، در اوج فعالیت رشد، تکثیر و تولید متابولیت های ثانویه نیست، از این رو قدرت باکتری پروبیوتیک در مهار رشد باکتری *استرپتوکوک موتانس* ، قابلیت اشغال محل‌های ویژه چسبندگی به مخاط، ایجاد محیط اسیدی و تولید موادی نظیر هیدروژن پراکساید در فرم خشک شده و کپسولی به طور قابل ملاحظه‌ای با فرم رویشی متفاوت است، همچنین در فرم کپسولی تفاوتی بین باکتری زنده و لاشه غیر فعال باکتری وجود ندارد، زیرا حین فرآیند خشک شدن تعدادی از میکروارگانیسم ها به دلیل آسیب در غشای سلولی و دیواره از بین می روند. [۱۳]

اما در مطالعه ای که امین آبادی و همکاران در رابطه با ماست تجاری حاوی LGG انجام دادند نیز تغییری در شمارش استرپتوککهای موتانس بزاق پس از ۳ هفته کاربرد روزانه مشاهده نگردید. [۲۴] البته علاوه برتفاوت در طراحی مطالعه و نوع پروبیوتیک مربوطه، احتمالا میزان اندک ماست مصرفی روزانه (۳۰-۱۵ سی سی) هم می تواند در توجیه تفاوت نتایج با مطالعه حاضر دخیل باشد.

در مطالعه حاضر تعداد *استرپتوککهای موتان* بزاق در گروهی که ماست پروبیوتیک استفاده می‌کردند نسبت به گروه مصرف کننده ماست معمولی کاهش قابل توجهی را از نظر آماری نشان داد که بسیاری از مطالعات مشابه نیز این نتیجه را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند[۷،۸ ،۱۷-۱۹] اما در مطالعه مرتضوی و همکاران گرچه مصرف پنیر حاوی باکتری پروبیوتیک L.casei موجب کاهش تعداد *استرپتوککهای موتانس* بزاق گردید اما

Archive of SID
www.SID.ir

تفاوت آن با گروهی که پنیر معمولی مصرف کرده بودند از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. [۲۱] این مطالعه علاوه بر تفاوت در نوع طراحی، از نظر نوع , غلظت و حامل پروبیوتیک مصرفی و طول مدت مصرف محصول مربوطه (۲ هفته) نیز با مطالعه حاضر متفاوت است.

باکتری های پروبیوتیک موجود در محصول مورد بررسی مطالعه حاضر جزء شایعترین گونه‌های مورد استفاده می باشند.[۵]

Bifidobacteria باکتری بی هوازی گرم مثبتی است که بطور شایع در روده و بیوفیلم دهانی مشاهده می شود و می‌تواند از تخمیر سوکروز اسدلاکتیک ایجاد کند [۲۵] این میکروارگانیزم استفاده تجاری وسیعی داشته و بعنوان یک ماده ایمن در ترکیبات لبنی بکار می رود. اما مطالعات در زمینه اثر بخشی این گونه بعنوان پروبیوتیک در سلامت دهانی محدود است.[۱۰] در چند مطالعه بالینی اثر مهاری مصرف حامل‌های حاوی این باکتری بر روی رشد و تکثیر *استرپتوککهای موتانس* بزاق به تنهایی[۱۰،۱۲] ویا همراه با سایر باکترهای پروبیوتیک [۱۷،۲۰] نشان داده شده است. این باکتری در بزاق زنده مانده و به بلورهای هیدروکسی آپاتیت پوشانده شده با *Fusobacterium nucleatum*متصل شود که می‌تواند نشانگر اهمیت سایر باکتری‌های دهانی در اثر بخشی بالقوه گونه های پروبیوتیک باشد.[۱۰]

اما در مطالعه‌ای که Taipale و همکاران انجام دادند مصرف دو بار در روز حامل‌های حاوی باکتری پروبیوتیک *Bifidobacterium lactis- Bb12* به مدت طولانی(۲سال) واز اوایل کودکی نتوانست به طور معنی‌داری موجب کاهش تعداد استرپتوککهای موتانس سطح دندان ومخاط دهان داوطلبین گردد.[۲۶] مغایرت نتایج مطالعه Taipaleوهمکاران با نتایج حاضر می‌تواند علاوه بر تفاوت در طراحی مطالعه، همراه بودن باکتری مربوطه با *L. acidophilus-La5*در مطالعه حاضر و اثر سینرژیک آنها باشد.

باکتری پروبیوتیک دیگری که در محصول مورد بررسی استفاده شده است *Lactobacillus acidophilus-La5* می باشد. لاکتوباسیلها به فراوانی در سطوح مخاطی حفره دهان یافت می‌شوند. سابقا نشان داده شده است که که گونه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلها می‌توانند در بزاق زنده مانده با مهار چسبندگی سایر باکتریها و تعدیل ترکیب پروتئینی پلیکل بزاقی بر اکولوژی دهانی تاثیر گذار باشند. همچنین چندین گونه از *لاکتوباسیلها* مواد آنتی باکتریالی تولید می‌کنند که می‌تواند سبب مهار رشد *استرپتوککهای موتانس* گردد. [۲۷] مشاهده شده است که فعالیت ضد میکروبی لاکتوباسیلها به طور قابل توجهی به توانایی آنها درایجاد افت pH بستگی دارد.[۲۲] در دو مطالعه آزمایشگاهی که اخیرا انجام شده و قدرت مهاری انواع باکتری های *لاکتوباسیل* بر رشد *استرپتوککهای موتانس* مورد بررسی قرار گرفته نشان داده شده است که *L . acidophilus-La5* در غلظت‌های CFU/ml 10^{5}-10^{7} تنها اثر مهاری مختصری بر روی برخی از نژادهای استرپتوکک موتانس دارد[۱۵] ودر غلظتهای کمتر 10^{3} (CFU/ml) ۰ ۴ (هیچگونه اثر مهاری در این رابطه نشان نمی‌دهد[۱۵-۲۷]

Keller و همکاران اثر مهاری لاکتوباسیلهای مورد بررسی را در تولید *باکتریوسین* می‌دانند و بیان می کنندکه حداکثر تولید آن در pH ۴/۵-۵/۵ رخ می‌دهد که حضور *Lactobacillus acidophilus-La5* نمی‌تواند این pHاسیدی را ایجاد کند.[۲۷] با وجود این برخی از این گونه باکتریها مانند *L. returi ATCC 55730* با اینکه تولید اسید نسبتا ضعیفی دارند اما در مهار رشد *استرپتوککهای موتانس* موثر می باشند، این بیان می‌کند که سایر مواد مهاری هم ممکن است در این روند دخیل باشند، مانند تولید H_2O_2 [۱۵] مطالعات بالینی متعددی نیز در مورد اثر مهاری گونه‌های مختلف لاکتوباسیل‌هایی که بعنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند انجام شده است. اما بیشتر این مطالعات در رابطه با نژادهای مختلف باکتری *L.rhamnosus GG(LGG)*با تایید اثر مهاری بر رشد *استرپتوککهای موتانس* [۱۹] و یا عدم تاثیر آن [۲۲] یا اثر بخشی نژادهای مختلف باکتری *L.reuteri* در این زمینه [۷،۱۶] و یا عدم اثربخشی[۲۲]

Archive of SID

www.SID.ir

آن است. تنها مطالعه بالینی که بر روی اثر-*acidophilus La5 . L*انجام شده در همراهی آن با *Bifidobacterium lactis- Bb12*ترکیبی مشابه باکتری‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر، بوده که نشان داده همراهی این دو گونه می‌تواند به طور معناداری سبب کاهش تعداد کلنی های *استرپتوکک* بزاق گردد. مولفین ابراز می دارند همانطور که در مطالعات اثر مصرف پروبیوتیکها بر دستگاه گوارش نشان داده شده ترکیبی از گونه های مختلف باکتری های پروبیوتیک می توانند سبب تقویت چسبندگی به روش سینرژیک گردند واحتمال دارد مکانیسم مشابهی نیز در حفره دهان قابل انتظار باشد. [۲۰] نتایج این مطالعه کاملا همسو با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می باشد.

همچنین در مطالعه Jindal و همکاران از دو گونه مختلف باکتری پروبیوتیک استفاده شد (گونه های *Bifidobacterium*و *L.rhamnosus* ونتایج مشابه بدست آمد[۱۷] Caglarو همکاران بیان می کنند کاربرد پروبیوتیکها بصورت تک نژادی باکتری را وادار می کند در برابر موانع اعمال شده توسط میزبان و فلور نرمال وی به تنهایی عمل کند درحالیکه کاربرد پروبیوتیک ها بصورت چند نژادی تنوع بیشتری داشته و شانس بقا حداقل یک نژاد را تقویت می‌کند. [۷]

از نتایج غیر قابل پیش بینی این مطالعه افزایش قابل توجه آماری تعداد استرپتوککهای موتانس بزاق گروه مصرف کنندگان ماست معمولی بعد از طی دوره مداخله بود با وجودی که درمقایسه، گروهی که هیچ نوع ماستی مصرف نکرده بودند تغییری در تعداد *استرپتوککهای موتانس* بزاقشان پس از طی دوره در نظر گرفته شده مشاهده نگردید. در بسیاری از مطالعات مشابه با مصرف محصول کنترل تغییری در تعداد *استرپتوکک‌های موتانس* بزاق بدست نیامده است.[۱۹-۱۲،۱۶ ، ۱۰]

متاسفانه مولفین مطالعه حاضر نتوانستند توجیه قابل قبولی در رابطه با این یافته ارائه دهند. بنظر می‌رسد ارزیابی صحت این یافته نیاز به مطالعات بیشتری داشته باشد.

از دیگر نتایج این تحقیق عدم تداوم اثر ماست حاوی پروبیوتیک دو هفته بعد از قطع مصرف می‌باشد.

در مطالعه‌ای که Chuang و همکاران در مورد اثر مصرف ۲ هفته‌ای قرصهای حاوی پروبیوتیک - *Lactobacillus paracasei* ۳×۱۰^{۸} در هر قرص انجام دادند با آنکه بلافاصله پس از طی دوره مداخله کاهش قابل توجهی در تعداد کلنی های *استرپتوکک موتانس* بزاق مشاهده نشد، این کاهش دو هفته پس از قطع مصرف اختلاف قابل توجهی را از نظر آماری با میزان پایه نشان داد.[۹] همینطور در مطالعه Glavinaو همکاران نیز تنها در نمونه‌گیری که حدود ۱۵ روز بعد از قطع مصرف ماست پروبیوتیک مورد بررسی حاوی LGG انجام شد، کاهش تعداد *استرپتوککهای موتانس* بزاق نسبت به شمارش پایه از نظر آماری قابل توجه بود.[۱۹] مولفین این دو تحقیق ذکر کردند درصورتی که پروبیوتیکها بتوانند در داخل حفره دهان کلونیزه شوند می‌توانند اثر مهاری خود بر روی *استرپتوککهای موتانس* را اعمال کنند و این اثر طی یک دوره مداخله کوتاه مدت قابل دسترسی نمی باشد، ولی نتوانستندمکانیسم این اثر را بعد از قطع دوره مداخله شرح دهند. [۹،۱۹] همچنین در سایر مطالعات که از گونه‌های مختلف لاکتوباسیل بعنوان عامل پروبیوتیک استفاده شده است پاکسازی سریع آنها از حفره دهان به فاصله کوتاهی پس از قطع مصرف گزارش گردیده است[۲۲] Taipale وهمکاران نتوانستند پس از ۸ و۲۴ ماه از استفاده روزانه حامل‌های *Bifidobacterium lactis Bb-12*کلونیزاسیون این باکتری را برروی دندان و مخاط کودکان نشان دهند و ادعا نمودند این باکتری تنها حضور موقتی در حفره دهان دارد. [۲۶] همچنین *Saxelin* و همکاران در طی و بعد از ۲ هفته کاربرد ماست ویا پنیر حاوی Bb-12 نتوانستند حضور این باکتری را در نمونه های بزاق داوطلبین بالغ نشان دهند.[۲۸]

در مطالعه حاضر ماست پروبیوتیک مورد بررسی حامل دو نوع باکتری *Lactobacillus acidophilus-La5*و *Bifidobacterium lactis Bb-12*بود(با مقادیراولیه $۲-۲/۵\times ۱۰^{۷}$CFU/ml که بتدریج در طی یک هفته رو به

Archive of SID
www.SID.ir

کاهش می‌رفت). دو هفته پس از قطع مصرف محصول مربوطه تعداد کلنی‌های استرپتوکک موتانس بزاق به حد پایه بازگشت کرد و تداومی در اثر مهاری مربوطه پس از قطع مصرف مشاهده نگردید. همانطور که قبلا ذکر شد نوع و دوز پروبیوتیکهای کاربردی در مطالعات مختلف متفاوت است و بنظر میرسد پروبیوتیک بکار رفته در محصول مورد بررسی ما قدرت کلونیزاسیون واعمال اثر مهاری کافی بر روی *استرپتوککهای موتانس* را طی سه هفته استفاده داشته باشد اما تداوم این اثر ملزم به استفاده مداوم ومکرر این محصول باشد.

ذکر شده است که پروبیوتیکها نمی توانند به طور دائمی در دستگاه گوارش و حفره دهان کلونیزه شوند و باید به مقدار کافی وبه طور روزانه مصرف شوند[۱۲] و در صورت قطع مصرف سریعا از حفره دهان ناپدید می شوند.[۲۰]

شاید یکی از دلایل عدم تداوم اثر مهاری محصول مورد نظر را بتوان به افت سریع تعداد باکتری های *پروبیوتیک* در محصول مربوطه در طی دوره یک هفته‌ای دانست. افت باکتری های پروبیوتیک در ماست عمدتا به دلیل post-acidification (پس اسید سازی) است که خود ناشی از ادامه فعالیت باکتری های استارتر ماست یعنی *استرپتوکوک ترموفیلوس و لاکتو باسیل بولگاریس* می باشد.[۱۳،۲۹]

هر چند هنوز به طور شفاف مکانیسم اثر مصرف خوراکی پروبیوتیک ها در کاهش تعداد *استرپتوکوک های موتانس* بزاق مشخص نشده است اما مکانیسم های متعددی در مطالعات مختلف بیان شده است مثل ترشح مواد آنتی باکتریال متنوع نظیر اسیدهای ارگانیک ، هیدروژن پراکسید و باکتریوسین ، این مواد با گونه *استرپتوکوک موتانس* در محیط دهان مقابله می کند و مقدار آن را در محیط دهان کاهش می دهد ، پروبیوتیک ها همچنین با کاهش PH و تولید مواد اسیدی با بقای پاتوژن های محیط دهان مقابله می کنند.[۷] علاوه بر آن به نظر می رسد پروبیوتیک ها در چسبندگی بر روی مخاط دهان با *استرپتوکوک موتانس* رقابت می کنند و از طریق اشغال مکان های اتصال *موتانس* به مخاط باعث کاهش کلونیزاسیون موتانس در محیط دهان می شوند.[۲۱] همچنین پروبیوتیک ها باعث کاهش پاسخ التهابی در محیط دهان شده، پروبیوتیک ها با تحریک ایمنی غیر اختصاصی وتنظیم پاسخ ایمنی سلولار و هومورال می توانند اثرات مفیدی در این زمینه داشته باشند[۳۱، ۱۰، ۳۰]

این مطالعه بصورت تصادفی متقاطع دو سوکور با لحاظ کردن دوره های آماده سازی (run in) ۱ هفته ای قبل از شروع مداخله و دوره های پاکسازی (wash out) ۲ هفته ای بین مراحل مداخله طراحی گردید، همچنین کلیه نوبتهای نمونه‌گیری بزاق در ساعت یکسانی از روز و تحت نظارت یک عمل کننده انجام شد، بعلاوه نمونه‌ها بعد از تهیه در محفظه حاوی یخ نگهداری شده ودر عرض حداکثر۳ ساعت بعد از نمونه گیری آنالیز میکروبیولوژیک آن توسط یک عمل کننده واحد آغاز گردید تا حتی الامکان نقش عوامل مداخله گر کمرنگ‌تر گردد. همچنین در این مطالعه از روش کشت جهت شمارش استرپتوکک‌های نمونه‌های بزاق استفاده شد.گرچه استفاده از کیت‌های Chair side روش آسانتری است اما نهایتا روشی نیمه کمی است و استاندارد طلایی در این زمینه اندازه‌گیری تعداد استرپتوکوک موتانس بزاق طی کشت می‌باشد[۱۲،۳۲] در یک جمع بندی به نظر می‌رسد که مصرف کوتاه مدت پروبیوتیک ها منجر به مهار *استرپتوککهای موتانس* بزاق و در نتیجه کاهش آن در محیط دهان می شود ولی این اثر به فاصله دو هفته بعد از قطع مصرف قابل مشاهده نیست. البته تعمیم نتایج این مطالعه باید با احتیاط انجام بگیرد چرا که ترکیب باکتریهای پروبیوتیک بکار رفته در این مطالعه تاکنون مورد تحقیق زیادی قرار نگرفته بعلاوه گروهی که مورد مطالعه قرار گرفتند دانشجویان دندانپزشکی با بهداشت دهانی قابل انتظار بالاتر از حد متوسط جامعه بودند که تعداد *استرپتوککهای موتانس* پایه بزاق آنها مساوی یا بسیار کمتر از 10^5 CFU/ml بود. لذا توصیه می‌شود مطالعات بیشتری در این زمینه در گروههای با خطر بالاتر پوسیدگی و گروههای سنی متفاوت انجام شود. بعلاوه جهت بررسی بیشتر اثر بخشی محصول مربوطه ارزیابی دوره های متفاوتی از مداخله و wash out و استفاده از تعداد نمونه بیشتری توصیه می‌گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

References:

1- Pinkham JR, casamassimo PS , Mctigue DJ, Field HW, Nowak AJ. Pediatric Dentistry Infancy through Adolescence .4nd ed. St LouisMissouri: Mosby; 2005. P:200-201.

2- Harris NO, Garcia-Goday F, Nathe NC .Primary Preventive Dentistiry.7nd ed.New Jersey: Pearson; 2009. p:399, 426-7.

3- Dean JA, Avery DR , McDonald .Dentistry for the child and adolescent . 9 nd ed.Maryland HeightsMissuri: Mosby;2011.p:178.

4- Murray JJ,Nunn JH, G.Steel J.Prevetion of oral Disease.4nd ed. New York: Oxford university Press;2003.p:96-100.

5- Akhlagi N, Motazavi S. Probiotis effects on oral health. Journal of Isfahan Dental school. 2011 :7(2): 187-199.

6- World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food [cited 2002 May]: Available from:URL: http//www.who.int/food safty/FS_management/en/probiotic-guidelines.

7- Caglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A Probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Int J Paediatr Dent. 2008 Jan;18(1):35-9

8- Cogulu D, Topaloglu-AK A, Caglar E ,Sandalli N, Karagozlu C, Ersin N, etal. Potential effects of a multistrain probotic-Kefir on salivary streptococcus mutans and lactobacillus SPP.J Dent Sci 2010;5(3): 144-149

9- Chuang LC, Huang CS, Ou-Yang LW, Lin SY. Probiotic Lactobacillus paracasei effect on cariogenic bacterial flora. Clin Oral Inrestig .2011 ,Aug ;15(4):471-6.

10- Caglar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S. short-term effect of ice-ream containing Bifidobacterium Lactis Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. Acta Odontol Scand. 2008 Jun;66(3):154-8

11- - Heijnsbroek M, Gerardu VA, Buijs MJ, van Loveren C, ten Cate JM, Timmerman MF,etal. Timmerman MF,etal. Increased salivary fluoride concentrations after post-brush fluoride rising not reflected in dental plaque. Caries Res .2006; 4(5): 444-8.

12- Cildir SK, Germec D,Sandalli N, ozdemr FL, Arun T, Twetmans, etal .Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. Eur J Orthod. 2009 Aug;31(4):407-11

13- Khosravani Darani K, Kooshki MR .Probiotics in milk and dairy products.1nd ed .Tehran:Marze danesh;2007.p:17-25,244-252.

14- Vinderola CG, Reinheimer JA. Culture media for the enumeration of Bifidobacterium bifidum and lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria .International Dairy Journal 1999; 9(8):497-505

15- Hasslof P, Hedberg M, Twetman S, Stecksen-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli- an invitro study. BMC Oral Health. 2010 Jul 2;10:18

16- Caglar E, kavaloglu SC, Kuscu OO, sandalli N, Holgerson PL, Twetman S.Effect of Chewing gums containing Xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Clin oral investing. 2007 Dec;11(4):425-9

17- Jindal G, Pandey RK, Agrwal J,Singh M. A comparative evaluation of probiotics on Salivary mutans streptococci counts in Indian children. Eur Arch paediatr Dent. 2011 Aug;12(4):211-5.

18- Ferrazzano GF,Cantile T, Sangianantoni G. Amato I, Ingenito A. The effects of short-term consumption of commercial yogurt on salivary mutans streptococci and lactobacilli counts: an invivo investigation. Eur J Clin Nurt. 2011 Oct; 65(10): 1170-2.

Archive of SID

www.SID.ir

19- Glavina D, Gorseta K, skrinjaric I , Vranic DN, Mehulic K, kozul K. Effect of LGG yoghurt on streptococcus mutans and lactobacillus spp. Salivary counts in children. Coll Antropol. 2012 Mar;36(1): 129-32.

20- Singh R, Damle SG, chawla A. salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing Bifidobacterium lactis Bb_{12} and lactobacillus acidophilus La_5 . Acta Odontol Scand. 2011 Nov;69(6):389-94

21- Mortazavi S, Akhlaghi N. Salivary streptococcus mutans and lactobacilli levels following probiotic cheese consumption in adults: A double blind randomized clinical trial, J Res Med Sci.2012 Jan; 17(1): 57-66.

22- Marttinen A, Haukioja A, Korjalainen S, Nylund L, Satokari R, Ohmanc,etal. Short term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production of supragingival plaque. Clin Oral Investing. 2012 Jun;16 (3): 797-803.

23- Petti S, tarsitani G, D'Arca AS. A randomized clinal trial of the effect of yogurt on the human salivary microflora. Arch Oral Biol. 2001;46 (8): 705-712.

24- Aminabadi NA, Erafanparust L, Ebrahimi A,Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in 6-12 year-old children: a randomized controlled trial. Caries Res. 2011:45(2): 148-154.

25- Calglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of Yogurt with Bifidobacterium DN-173010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults . Acta Odontol Scand. 2005 Nov;63(6):317-20.

26- Taipale T, Pienihakkinen K, salminen S , Jokela J, Soderling E. Bifidobacterium animalis subssp. Lactis BB-12 Administration in Early childhood: A randomized clinical trial of Effects on oral colonization by Mutans streptococci and probiotic. caries Res. 2012;46(1): 69-77.

27- Keller MK, Hasslöf P, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic Lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci : An in vitro study. Acta Odontol Scand. 2011 Sep;69(5):263-8

28- Saxelin M, Lassig A, Karjalainen H, Tynkkynen S, Surakka A, Vapaatalo H. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt or cheese. Int Food Microbiol. 2010 Dec 15;144(2):293-300

29- Taheri P, Ehsani MR, Khosravi-Darani K. Effect of Lactobacillus La-5 on microbiological characteristics, Sensory attributes and phase separation of Iranian Doogh drink during refrigerated storage. Iranian journal of nutrition sciences and food technology.2009;4(3):15-24.

30- Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. J Nutr. 2000 Feb;130(2S Suppl):403S-409S

31- Isolauri E, Sutas Y , Kankaanpaa P, Arvilommi H, salminen S. probiotics: Effect on Immunity. Am J Clin Nutr. 2001 Feb;73(2 Suppl):444S-450S..

32- Sánchez-García S, Gutiérrez-Venegas G, Juárez-Cedillo T, Reyes-Morales H, Solórzano-Santos F, García-Peña C. A simplified caries risk test in stimulated saliva from elderly patients. Gerodontology. 2008 Mar;25(1):26-33.

Archive of SID

www.SID.ir