

## بررسی اثر ماست پروبیوتیک بر pH بزاق در بیماران ارتودنسی (کار آزمایشی بالینی)

دکتر مریم حوری زاد<sup>۱</sup>، دکتر مریم میرهاشمی روته<sup>۲</sup>، دکتر رامین راه پیما<sup>۳</sup>، دکتر میترا صالحی<sup>۴</sup>، دکتر سمیه زوارئیان<sup>۱</sup>

۱- استادیار بخش ترمیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۲- دستیار تخصصی دندانپزشکی ترمیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۳- استادیار بخش ارتودنسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

۴- استادیار بخش میکروبیولوژی واحد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** مطالعات گذشته اثر سودمند پروبیوتیک های محصولات لبنی را بر میکروبیهای دهانی گزارش کرده اند. از آنجا که تاکنون مطالعه ای در مورد اثر این محصولات بر pH بزاق انجام نشده است و از طرفی تغییرات pH در شروع دیمینرالیزاسیون اهمیت دارد، این مطالعه با هدف بررسی اثر ماست پروبیوتیک بر pH بزاق در بیماران ارتودنسی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی، از نوع کارآزمایی بالینی متقاطع دو سوکور بود. ۲۰ نفر از مراجعین به مطب خصوصی شهر تهران که تحت درمان ارتودنسی دو فک بوده و سه ماه از شروع درمان آنها می گذشت انتخاب شدند. میزان pH بزاق توسط کیت در شروع مطالعه اندازه گیری شد. بیماران به طور تصادفی در دو گروه قرار گرفتند و به مدت ۲ هفته ماست های نوع A و B را مصرف کردند بعد از گذشت ۶ هفته wash out مجدداً به مدت ۲ هفته ماست مصرف کردند. در ابتدا و انتهای ۲ هفته اول و دوم نمونه گیری انجام شد. با استفاده از آزمون تکراری ANOVA نتایج حاصل مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** میزان pH بزاق قبل و بعد از مصرف ماست پروبیوتیک به ترتیب  $6/79 \pm 0/32$  و  $7/08 \pm 0/39$  ( $p < 0/05$ ) بود و در مورد ماست معمولی به ترتیب قبل و بعد از مصرف برابر با  $6/86 \pm 0/35$  و  $6/88 \pm 0/36$  ( $p < 0/05$ ) بود. مقایسه نتایج نشان داد مصرف ماست پروبیوتیک باعث افزایش pH بزاق می شود و مصرف ماست معمولی بر روی pH بزاق اثری ندارد.

**نتیجه گیری:** تجویز ماست پروبیوتیک می تواند در افزایش pH بزاق در بیماران نقش داشته باشد و احتمالاً شرایط را به سمت رمینرالیزاسیون ساختارهای معدنی دندان پیش ببرد.

**کلید واژه‌ها:** pH، بیماران، پروبیوتیک، ماست، بزاق

وصول مقاله: ۹۱/۴/۱۱ اصلاح نهایی: ۹۱/۸/۱۲ پذیرش مقاله: ۹۲/۲/۲۲

### مقدمه:

مواد غذایی حاوی پروبیوتیک می تواند در پیشگیری از پوسیدگی

دندان مفید باشد و اثر آنها بر کاهش تعداد استرپتوکوک

موتانس در برخی از مطالعات تأیید شده است.<sup>(۵)</sup>

این باور که بعضی از باکتری ها می توانند برای سلامتی مفید

باشند به اوایل قرن ۲۰ بر می گردد، هنگامی که

Metchinikoff گزارش کرد که طول عمر بلغاری ها بیشتر از

سایر نژادهاست و علت آن را مصرف محصولات لبنی

تخمیر شده که حاوی باکتری می باشد، بیان کرد. نظر وی این

بود که باکتری ها در محصولات مخمری با باکتری های مضر

رقابت می کنند.<sup>(۱)</sup> واژه پروبیوتیک به عنوان متضاد آنتی

بیوتیک در سال ۱۹۵۶ توسط Still well و Lilley بیان

هم اکنون پوسیدگی دندان یکی از مشکلات بزرگ جوامع

بشری به شمار می رود و یکی از شایعترین بیماری های مزمن

جهان است که تقریباً ۹۵ درصد افراد جامعه به آن مبتلا

می شوند.<sup>(۱،۲)</sup>

خطر پوسیدگی دندانی در بیمارانی که تحت درمانهای

ارتودنسی قرار می گیرند بیشتر از افراد عادی است.<sup>(۳،۴)</sup> بنابراین

یافتن راه های پیشگیری جدید و آسان و بدون عوارض جانبی

بخصوص در بیمارانی که تحت درمان ارتودنسی قرار می گیرند

ضروری به نظر می رسد.

اخیراً در برخی از گزارشات ذکر شده است که استفاده از

# نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مریم حوری زاد استادیار بخش ترمیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دندانپزشکی تهران، پاسداران، نیستان دهم، پلاک ۴ تلفن: ۰۹۱۲۱۵۴۸۴۷۶ پست

الکترونیک: mahoorzad@yahoo.com

بیمار نسبت به نوع ماست ارائه شده کاملاً blind بودند. با توجه به نتایج مطالعات مشابه با در نظر گرفتن  $\alpha=0.05$  و  $\beta=0.2$ ، اختلاف میانگین برابر  $0.3$  و انحراف معیار متوسط  $0.4$  حداقل حجم نمونه مورد نیاز با استفاده از گزینه مقایسه دو میانگین بررسی و تعیین حجم نمونه انجام شد.<sup>(۱۵)</sup> و ۲۰ فرد سالم ۳۰-۱۲ ساله مراجعه کننده به مطب خصوصی که تحت درمان ارتودنسی ثابت دو فک قرار گرفته بودند و سه ماه از شروع درمان آنها گذشته بود، پس از معاینه توسط دندانپزشک متخصص برای رد پوسیدگی و سایر بیماریهای دندانپزشکی یا سلامت عمومی، عدم مصرف کورتیکواستروئیدها و سایر داروها از جمله آنتی بیوتیک سیستمیک، دهانشویه کلرگزیدین، مصرف عادی آدامس xylitol، طی ۴ هفته گذشته مورد مصاحبه و معاینه قرار گرفتند و اگر هر کدام از موارد گفته شده مثبت بود از طرح خارج می شدند.<sup>(۵)</sup> افراد سیگاری، باردار یا مصرف کننده داروهای ضد بارداری نیز وارد مطالعه نشدند.<sup>(۱)</sup> بیماران بطور تصادفی در دو گروه ۱۰ نفره الف و ب قرار گرفتند.

ماست‌هایی که از کارخانه شیر پگاه تهران در اختیار قرار گرفت، در ۲ بسته بندی متفاوت ولی با برچسب یکسان (پروماس) بودند، بر حسب قرارداد ماست های با ظرف مکعب شکل را ماست A و ماست های با ظرف استوانه ای شکل ماست B در نظر گرفته شد. بعد از اتمام نمونه گیری ها بنا به اظهار مسؤول امور پژوهشی کارخانه ماست موجود در ظرف مکعب شکل (A)، پروبیوتیک بوده و حاوی  $10^7 \times 2$  واحد شمارش کولونی بر گرم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بود. ماست موجود در ظرف استوانه ای شکل (B)، ماست ساده بود. با توجه به اینکه تعداد باکتری ها با نزدیک شدن به تاریخ انقضای محصول کاهش می یابد<sup>(۱۲)</sup>، بنا به پیشنهاد کارخانه، ماست ها به صورت هفتگی تهیه شدند و از نظر زمانی مطالعه بر روی بیماران به ۴ دوره تقسیم شد.

دوره ۱: از بیماران درخواست شد به مدت ۱ هفته هیچگونه ماستی مصرف نکنند.

دوره ۲: در این دوره از بیماران درخواست شد به مدت ۲ هفته

شد.<sup>(۶)</sup> پروبیوتیک ها، طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی میکروارگانیسم‌های زنده هستند که وقتی به میزان مناسب تجویز شوند اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان دارند.<sup>(۷)</sup> نسل‌های اولیه پروبیوتیک که در تحقیقات معرفی شدند شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و (بیفیدوباکترها) بودند که به ترتیب توسط Hull و همکاران در سال ۱۹۸۴ و Holcomb و همکاران گزارش شدند.<sup>(۸)</sup>

پروبیوتیک‌ها طیف وسیعی از اثرات را بر میزبان دارند که می تواند از اثر مستقیم آنتاگونیستی علیه پاتوژن ها تا تاثیر بر اپی تلیم روده ای و سیستم ایمنی بیمار باشد.<sup>(۸)</sup>

pH بزاق به عنوان یک عامل تعیین کننده خطر پوسیدگی در افراد مطرح می باشد. در شرایط pH اسیدی امکان بروز پوسیدگی افزایش می یابد. در مطالعات بسیاری به اثرات پیشگیری کننده موادی نظیر زایلینول، دهانشویه حاوی فلوراید، ترکیبات کازئین فسفو پتید آمورفوس کلسیم فسفات (CPP-ACP) اشاره شده است که می‌توانند از طریق اثر بر pH بزاق به این هدف برسند.<sup>(۹-۱۱)</sup>

با توجه به خلا اطلاعاتی در مورد محصولات غذایی حاوی پروبیوتیک در ایران و کمبود مطالعات کلینیکی و تناقض در مورد اثر آنها بر میکروارگانیسم های دهانی<sup>(۴،۷)</sup> و نبود مطالعه کلینیکی در مورد اثر این محصولات بر pH بزاق به عنوان یک راهکار علمی و عملی برای متخصصین ارتودنسی و سایر دندانپزشکان و با توجه به ساده، عملی و مفید بودن این مطالعه برای بیماران، نیاز به انجام این تحقیق احساس می شد و این مطالعه با هدف تعیین تاثیر مصرف ماست پروبیوتیک بر pH بزاق در بیماران ارتودنسی در سال ۱۳۹۰ در واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد.

## مواد و روش ها:

این مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی متقاطع دوسو کور بود. تمامی افراد انتخابی برای ورود به مطالعه از چگونگی و روند طرح مطلع گشته و رضایت کتبی مبنی بر رضایت آگاهانه و اختیاری برای شرکت در پژوهش از افراد کسب شد. محقق و

مقایسه میزان pH بزاق قبل از مصرف ماست پروبیوتیک با میزان آن بعد از مصرف ماست پروبیوتیک نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی داری بین آنها بود ( $p < 0.05$ ) به عبارتی مصرف ماست پروبیوتیک باعث افزایش pH بزاق شد. مقایسه میزان pH بزاق قبل از مصرف ماست معمولی با میزان آن بعد از مصرف ماست معمولی نشان داد اختلاف آماری معنی داری بین آنها وجود ندارد ( $p < 0.05$ )

مقایسه میزان pH بزاق بعد از مصرف ماست پروبیوتیک با میزان آن بعد از مصرف ماست معمولی نشان داد اختلاف آماری معنی داری بین آنها وجود دارد. ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱)

جدول ۱- مقایسه میزان pH بزاق قبل و بعد از مصرف انواع ماست

نوع ماست	pH بزاق	میانگین $\pm$ انحراف معیار	میانگین $\pm$ انحراف معیار	P value
ماست ساده (شاهد)	$6.86 \pm 0.1356$	$6.88 \pm 0.1369$	$0.494$	
ماست پروبیوتیک (مورد)	$6.79 \pm 0.1327$	$7.08 \pm 0.1396$	$0.023$	
	P value	$0.309$	$0.046$	

#### بحث:

براساس نتایج پژوهش حاضر، مصرف ماست پروبیوتیک به مدت دو هفته pH بزاق را افزایش می‌دهد. هر چند این افزایش از نظر کلینیکی ناچیز به نظر می‌رسد (حدود ۰/۳) ولی با توجه به pH بحرانی در دمنیرالیزاسیون مینا که حدود ۵/۵ می‌باشد و pH بحرانی در دمنیرالیزاسیون عاج که ۶/۴ می‌باشد، حتی میزان اندک تغییرات pH می‌تواند از نظر کلینیکی مهم و تأثیر گذار باشد.<sup>(۲۰۱۴)</sup> و با توجه به شیوع پوسیدگی و روند رو به رشد آن، پیشگیری از پوسیدگی دندان اهمیت ویژه‌ای دارد. تاکنون مطالعه کلینیکی در مورد اثر پروبیوتیک‌ها بر pH بزاق انجام نگرفته است و تا تاریخ نگارش این مقاله تنها دو مورد مطالعه آزمایشگاهی صورت گرفته که در یکی از آنها لاکتوباسیلوس brevis CD2، بواسطه تولید NH3 از افت pH توسط استرپتوکوک موتانس جلوگیری کرده است. این گونه

روزانه ۲۰۰ گرم ماست مورد نظر را مصرف کنند که به بیماران گروه الف ماست A و به بیماران گروه ب ماست B داده شد. (ماست A پروبیوتیک و ماست B)، ساده بود

دوره ۳: دوره استراحت (wash out) که به مدت ۶ هفته در نظر گرفته شد.<sup>(۱)</sup> در این دوره از بیماران خواسته شد که هیچگونه ماستی مصرف نکنند و شرایط ورود به مطالعه (مانند عدم مصرف آدامس زالیبتول و...) را رعایت نمایند.

دوره ۴: در این دوره نیز بیماران به مدت ۲ هفته روزانه ۲۰۰ گرم ماست مصرف کردند ولی این بار بیماران گروه الف ماست B و بیماران گروه ب ماست نوع A را مصرف کردند.

بلافاصله در ابتدا و انتهای دوره ۲ و ۴ نمونه‌گیری انجام شد. نحوه اندازه‌گیری pH بزاق:

جهت اندازه‌گیری pH بزاق از کیت GC saliva buffer check ساخت شرکت GC کشور ژاپن، طبق دستور کارخانه سازنده کیت، بزاق بیمار در ظرف مخصوص جمع‌آوری گردید و از نوارهای موجود در کیت که به مدت ۱۰ ثانیه در تماس با بزاق قرار گرفتند استفاده شد.

pH بزاق از طریق مقایسه رنگ نوار با نمونه موجود در کیت تعیین شد.

بسیار اسیدی: طیف قرمز ۵/۸، ۵/۶، ۵/۴، ۵/۲، ۵

نسبتاً اسیدی: طیف زرد ۶/۶، ۶/۴، ۶/۲، ۶

بزاق سالم: طیف سبز ۷/۸، ۷/۶، ۷/۴، ۷/۲، ۷، ۶/۸

رنگ بدست آمده بر روی طیف مورد نظر قرار گرفته و عدد واقعی آن ثبت می‌شد. جهت بررسی وضعیت توالی مصرف و استراحت (carry over effect) از آزمون paired t test استفاده شد.

اثر مداخله در مورد متغیر pH بزاق با استفاده از آزمون two way repeated measure ANOVA با سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

#### یافته‌ها:

تحقیق در کلیه نمونه‌ها با پیگیری‌های مورد تعهد انجام گرفت و آزمون‌ها نشان داد که carry over effect وجود ندارد. ( $p < 0.1$ )

می دهد که دوره استراحت کافی بوده و اثر ماست ها تا مرحله دوم نمونه گیری باقی نمانده است. محصولات لبنی کازئین گلیکو ماکروپپتید (CGMP) و کازئین فسفوپپتید (CPP) هستند.<sup>(۲۰)</sup> CGMP به سطح دندان متصل شده و مانع اتصال باکتریها به ساختار دندان می شود.<sup>(۲۱)</sup> به دنبال کاهش pH و افزایش حلالیت هیدروکسی آپاتیت، CPP بصورت کمپلکس-های کوچکی به کلسیم و فسفات سطح دندان باند شده و این ویژگی های محصولات لبنی باعث خاصیت اسید بافرینگ آنها می شود.<sup>(۲۲)</sup> به همین دلیل ماست های حاوی پروبیوتیک به دلیل خاصیت بافرینگ زیاد، و پتانسیل اندک پوسیدگی زایی، و عدم ایجاد اروژن در دندانها، مورد توجه و استفاده قرار گرفته اند.<sup>(۲۱-۲۳)</sup>

بزاق اولین سد دفاعی در مقابل پوسیدگی است. مکانیسم ضد پوسیدگی بزاق از طریق خاصیت شستشو دهنده، پاک کنندگی باکتریها و خنثی کردن اسید به علت ویژگی بافری آن رخ می دهد که البته این ترکیب همیشه ثابت نیست و تابعی از سرعت جریان بزاق است بنابراین pH بزاق و پلاک دندانی یکی از شاخص های کمک کننده در تشخیص ریسک پوسیدگی فرد است.<sup>(۱۴،۱۳)</sup> عدم رعایت بهداشت، یا شرایطی که رعایت بهداشت را مشکل می سازد مثل وجود اپلاینس های ارتودنسی در دهان باعث می شود که پلاک میکروبی با سرعت و ضخامت کافی رشد نموده و محیط بی هوازی در مجاورت سطح دندان ایجاد شود و در نهایت منجر به بروز پوسیدگی شود.<sup>(۱)</sup> پایین بودن pH بزاق را می توان توسط عوامل مختلفی مانند CPP-ACP، دهانشویه های مختلف، خمیرهای مختلف مانند CPP-ACP، مختل کرد. افزایش pH در این مرحله سبب رمینرالیزاسیون ساختارهای دمنرالیزه می شود.<sup>(۱۵)</sup>

### نتیجه گیری:

با توجه به شرایط و محدودیت های مطالعه حاضر مصرف روزانه ۲۰۰ گرم ماست حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در بیماران ارتودنسی می تواند باعث افزایش pH بزاق شد.

پروبیوتیک مقادیر زیادی آنزیم آرژینین-دایمیناز (arginine deiminase) تولید می کند و اسید آمینه آرژینین را بطور غیر قابل برگشت به سیترولین (Citrulline) و آمونیا (NH<sub>3</sub>) تبدیل می کند. به این ترتیب این باکتری میزان اسیدآمینه آرژینین که برای رشد میکروارگانیسم های پاتوژن مثل هلیکوباکتر پیلوری که باعث گاستریت می شود و پروتلاکسین جیوالیس که باعث پریدونتیت می شود را کاهش می دهد. و بواسطه تولید NH<sub>3</sub> باعث ایجاد خاصیت بافرینگ می شود.<sup>(۱۶)</sup>

در تحقیق Pham و همکاران مشاهده شد که لاکتوباسیلوس رامنوسوس (LGG) مانع رشد استرپتوکوک موتانس می شود اما بر pH محیط اثری ندارد. LGG قادر به متابولیزه کردن سوکروز نیست، اما چنانچه به محیط سوکروز اضافه شود، و pH کاهش یابد رشد این میکروارگانیسم افزایش یافته و جمعیتش در پلاک افزایش می یابد و مانع اتصال سایر گونه های پاتوژن که محیط اسیدی را تحمل می کنند (مانند لاکتوباسیل-ها و استرپتوکوک موتانس) می شود.<sup>(۱۷)</sup>

Cogulu و Bonifait به تأثیر پروبیوتیکها بر محیط اطراف به واسطه تغییر pH و تغییر پتانسیل اکسیداسیون- احیا که بر ثبات گونه های پاتوژن اثر می گذارد، اشاره کرده اند.<sup>(۱۸،۱۹)</sup> اما مکانیسم این اثر در جایی ذکر نشده است. در هر حال نتیجه تحقیق حاضر می تواند شروعی باشد برای بررسی تأثیر سوشهای مختلف لاکتوباسیل بر pH بزاق. براساس نتایج حاصل ماست پروبیوتیک باعث افزایش میزان pH بزاق شد.

طراحی مطالعه حاضر به صورت متقاطع استفاده از ماست پروبیوتیک و ماست ساده روی یک گروه از افراد، این امکان را به پژوهشگر می دهد تا تأثیر عوامل مداخله گر یکسان سازی شده و می توان تصور کرد نتایج حاصل صرفاً مربوط به اثر ماستها بوده است.

آنالیز آماری اثر توالی مصرف را بررسی کرده است و مشخص می شود که نتایج حاصل مربوط به اثرات ماست ها می باشد و در واقع اولویت در دادن ماست پروبیوتیک یا ماست معمولی تأثیری در نتایج حاصل ندارد. همچنین بررسی زمان نشان

**References:**

- 1- Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur J Orthod.* 2009 Aug;31(4):407-11.
- 2- Roberson TM, Heyman H.O, Swift E. J. Sturdevant 's Art & Science of operative dentistry. 5nd ed. st.Louis: Mosby-year book ;2006.p:69.
- 3- Mizrahi E. Enamel demineralization following orthodontic treatment. *Am J Orthod.* 1982 Jul;82(1):62-7
- 4- Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod.* 1982Feb;81(2):93-8.
- 5- Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* by straws or tablets. *Acta Odontol Scand.* 2006 Oct;64(5):314-8.
- 6- Institute for Integrative Biology. Rusch V. Probiotics and definitions: a short review. Germany: The Institute; 2002
- 7- Rodgers S. Novel applications of live bacteria in food services: probiotics and protective cultures. *J Trends in Food Science & Technology* 2008; 19 (4) :188-97.
- 8- Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics role on oral health. *Oral Dis.* 2005 May;11(3):131-7.
- 9- Giertsen E, Emberland H, Scheie AA. Effects of mouth rinses with xylitol and fluoride on dental plaque and saliva. *Caries Res.* 1999; 33(1): 23-31.
- 10- Azizi A, Lawaf Sh, Najafi M. Comparison of the effect of different chewing gums and one mouth wash on the amount and pH of saliva in healthy individuals. *Shiraz J of Den;* 2007: 42-49 [Persian].
- 11- Aminabadi N A, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli in 6-12 year-old children: a randomized controlled trial. *Caries Res.* 2011; 45(2):148-54.
- 12- Moeiny P, Jamei N, Mohammadi M, Shafizadeh N, Valaei N, Rahbar M, et al. Effect of a probiotic yogurt produced in Iran on the salivary counts of streptococcus mutans. *JRDS.* 2013;10(2):73-82.
- 13- Mc Donald RE, David R, Grdrge K. *Dentistry for the child and adolescent.* 8nd Ed. Maryland Height: Mosby ; 2004.p:205,132,231,82-92.
- 14- Summitt JB, Robbins J.W, Hilton T.J, Schwartz R.S, *Fundamentals of operative dentistry.* 3nd ed. USA: Quintessence ; 2006.p:67-82,110,120.
- 15- Hakija A. Probiotics and Oral Health. *Eur J Dent.* 2010.4(3):348-55.
- 16- Reddy VN, Rao A.P, Kumar R.R. Probiotic lactobacilli and oral health. *Review Annals and Essences of Dentistry* 2011;3(2):100-103.
- 17- Pham LC, Hoogenkamp MA, Exterkate RA, Terefework Z, de Soet JJ, ten Cate JM, et al. Effect of lactobacillus rhamnosus GG on Saliva-derived microcosms. *Arch Oral Biol.* 2011 Feb;56(2):136-47.
- 18- Cogulu D, Taloglu-Ak A, Caglar E, Sandalli N, Karagozlu C, Ersin N, Oktay Yerlikaya O. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *J Dent Sci* 2010;5(3):144-9.
- 19- Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc.* 2009 Oct; 75(8):585-90.
- 20- Scheie AA, Arneberg P, Krogsted O. Effect of orthodontic treatment on prevalence of streptococcus mutans in plaque and saliva. *Scand J Dent Res.* 1984 Jun;92(3):211-7.
- 21- Caglar E, Lussi A, Kargul B, Ugur K. Fruit yoghurt: any erosive potential regarding teeth? *Quintessence Int.* 2006 Sep;37(8):647-51.
- 22- Kargul B, Caglar E, Lussi A. Erosive and buffering capacities of yoghurt. *Quintessence Int.* 2007 May;38(5):381-5
- 23- Johansson I. Milk and dairy products: possible effects on dental health. *Scandinavian j of Nutrition* 2002;46(3):119-22.