Archive of SID

مجله دنیای میکروب ها
سال اول، شماره اول، زمستان ۱۳۸۷
صفحات ۳۸ - ۲۹

جداسازی و شناسایی باکتری های اسید لاکتیک موجود در دهان افراد و بررسی اثر بازدارندگی شان بر روی برخی از باکتری های بیماریزای روده‌ای

دکتر جمیله نوروزی*[1]، دکتر آنیتا خنافری[2]، شیرین بیگلری[2]

گروه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران، [2]گروه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

چکیده

سابقه و هدف: استرپتوکوک های دهانی، ارگانیسم های غالب در پلاک دندانی هستند و استرپتوکوکوس میوتانس، مهم ترین گونه در ایجاد پوسیدگی اولیه دندان است. لاکتوباسیل ها در مرحله بعدی پوسیدگی دندان دخالت دارند. هدف از این پژوهش، جداسازی باکتری های اسید لاکتیک موجود در دهان افراد در گروه های مختلف سنی، تعیین pH و بررسی اثر مهاری لاکتوباسیل ها بر روی تعدادی از باکتری های بیماریزای روده ای (سالمونلا، شیگلا و اشریشیا کلی) می باشد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، نمونه برداری از بزاق و اطراف دندان ۷۵ نفر در گروه های مختلف سنی توسط سواب انجام شد و در محیط MRS کشت داده شد. لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها با روش استاندارد (شکل ظاهر کلنی، میکروسکوپی، تخمیر قندها و انجام تست‌های بیوشیمیایی) جداسازی و شناسایی شدند. همچنین pH مناسب رشد لاکتوباسیل‌ها و استرپتوکوک‌ها اندازه‌گیری گردید و اثر بازدارندگی لاکتوباسیل‌ها بر باکتری‌های بیماریزای روده ای (اشریشیاکلی، سالمونلا، شیگلا) با روش نقطه گذاری، دیسک گذاری و ایجاد چاهک تعیین شد.

یافته‌ها: لاکتوباسیل‌های جدا شده شامل شش گونه، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس گاسری، لاکتوباسیلوس برویس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوک جدا شده استرپتوکوکوس میوتانس بودند. لاکتوباسیل های جدا شده از دهان، رشد اشریشیا کلی را متوقف کردند، اما بر روی سالمونلا و شیگلا دارای اثر مهاری ضعیف یا فاقد اثر بازدارندگی بودند.

نتیجه گیری: نتایج این بررسی نشان داد که برخی از لاکتوباسیل ها در شرایط آزمایشگاهی از رشد پاتوژن ها جلوگیری می کنند. بنابراین مصرف لبنیات در تغذیه روزانه به علت وجود لاکتوباسیل ها توصیه می شود.

واژگان کلیدی: استرپتوکوکوس میوتانس، لاکتوباسیلوس‌ها، دهان، اثر بازدارندگی

دریافت مقاله: فروردین ۱۳۸۷ پذیرش برای چاپ: مرداد ۱۳۸۷

مقدمه

حفره دهانی محیط گرم، مرطوب و غنی از مواد غذایی است که گونه‌های مختلف و فراوانی از میکروارگانیسم‌ها را در خود نگهداری می‌کند. بیش از ۱۰۰۰ گونه مختلف باکتری‌ها ممکن است در دهان افراد بالغ وجود داشته باشند. جنس‌های استرپتوکوکوس، ارگانیسم های غالب در پلاک دندان، هستند و از بین آن‌ها استرپتوکوکوس میوتانس، مهم ترین گونه در تشکیل پوسیدگی دندان است (۱، ۲ و۳). گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس در پوسیدگی اولیه اهمیت چندانی ندارند. اما در ادامه پوسیدگی دندان اهمیت دارند (۲ و۳). بعضی از گونه‌های لاکتوباسیل ها، جزء میکروفلورای کومنسال غشای مخاطی انسان در دهان، واژن و روده هستند. در دهان، این باکتری ها معمولاً کمتر از ۱٪ میکروفلورا را تشکیل می‌دهند، گرچه تعدادشان بستگی به مصرف قند دارد (۴). این باکتری ها به عنوان آغازگر به مواد غذایی تخمیری اضافه می‌شوند و در بهبود طعم و بافت فرآورده‌های غذایی مؤثرند و همچنین نقش عمده ای را در

*)آدرس برای مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه میکروبیولوژی
تلفن: ۰۹۱۲۷۳۸۰۵۴۳ j_nowroozi@hotmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

جلوگیری از رشد ارگانیسم های فاسد کننده مواد غذایی به عهده دارند (۵). توانایی باکتری های اسید لاکتیک در جلوگیری از رشد میکروب های ناخواسته ممکن است ناشی از عوامل متعددی مانند تولید اسیدهای آلی شامل اسید لاکتیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید فرمیک یا اسیدهای چرب آزاد، آمونیاک، پراکسید هیدروژن، کاهش پتانسیل احیا و به ویژه سنتز آنتی بیوتیک ها و باکتریوسین ها باشد که همگی تحت عنوان آنتی بیوز (Antibios) تعریف شده اند (۶). Markla و همکاران نشان دادند که فعالیت ضد باکتریایی سویه‌هایی از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس آمیلووروس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر علیه سالمونلا انتریکا سروار تیفی موریوم SL1344 منحصراً مربوط به تولید اسید لاکتیک بوده و فعالیت ضد باکتریایی سویه هایی از لاکتوباسیلوس جانسونی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ارتباط با تولید اسید لاکتیک و یک یا چند ماده مهار کننده ناشناخته است که این ماده یا مواد فقط در صورت وجود اسید لاکتیک فعال می شدند (۷). لاکتوباسیل ها جزء میکروارگانیسم های پروبیوتیک هستند و با تولید ترکیبات آلی مثل اسید لاکتیک، هیدورژن پراکسید و اسید استیک و افزایش اسیدینه روده، از استقرار خیلی از باکتری‌های مضر جلوگیری می‌کنند. پروبیوتیک‌ها باکمک به عملکرد سیستم ایمنی بدن باعث افزایش مقاومت در برابر عفونت می‌شوند. لاکتوباسیلوس GG در کاهش تکرار و دوره اسهال ایجاد شده توسط روتاویروس در کودکان و در پیشگیری از اسهال در کودکان مؤثر است (۸ و ۹) و برای سلامت دستگاه تناسلی ـ ادراری و پیشگیری از پوسیدگی دندان قابل توجه هستند (۱۰ و ۱۱). همچنین نشان داده شده که شیرهای تخمیر شده با لاکتوباسیلوس GG باعث کاهش چسبیدن استرپتوکوکوس میوتانس به دانه های هیدروکسی آپاتیت پوشش بزاقی می شود (۸ و ۱۲). هدف از این پژوهش، جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در دهان افراد در گروه های مختلف سنی، تعیین pH و بررسی اثر مهاری لاکتوباسیل‌ها بر روی تعدادی از باکتری های بیماریزای روده ای (سالمونلا، شیگلا و اشریشیا کلی) می باشد.

مواد و روش ها

نمونه برداری از بزاق و اطراف دندان ۷۵ نفر در گروه های مختلف سنی توسط سواب انجام شد و در محیط MRS براث به مدت ۲۴ ساعت در $37^{\circ}C$ نگهداری گردید. از کلنی‌های رشد کرده در محیط MRS براث، برداشته و در محیط MRS آگار کشت داده شد و در $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت در شرایط میکروآئروفیل نگهداری شد. کلنی‌های خالص ایجاد شده از نظر مورفولوژی، رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و اکسیداز مورد بررسی قرار گرفتند. پس از رنگ آمیزی کلنی‌ها، در زیر میکروسکوپ دو نوع باکتری دیده شد، یک سری باکتری‌های میله ای گرم مثبت فاقد اسپور و یک سری باکتری‌های کوکسی شکل گرم مثبت مشاهده شد. از کلنی باکتری‌های میله‌ای مجدد در محیط MRS آگار و از کلنی‌های کوکسی در محیط استرپتوکوک سلکتیو آگار کشت و در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط میکروآئروفیل گرمخانه گذاری شدند. برای شناسایی و جداسازی استرپتوکوک‌ها از تست‌های اکسیداز، رشد در نمک‌های کلرور سدیم (NaCl) ۴٪ و ۶/۵٪، تولید استوئین(VP)، هیدرولیز اسکولین و همولیز بر روی محیط بلاد آگار و برای بررسی متابولیسم کربوهیدرات، از محیط پایه فنل رد به علاوه ۱٪ قند استفاده شد. برای شناسایی لاکتوباسیل‌ها و بررسی متابولیسم کربوهیدرات ها، قند مورد نظر به محیط MRS پایه فاقد عصاره گوشت و گلوکز اضافه شد و با افزودن فنل رد، کشت باکتری انجام گرفت. از محیط‌های SIM و زرده تخم مرغ آگار (yolk agar egg) و ژلاتین به ترتیب برای انجام آزمایش های حرکت، لسیتیناز و ژلاتیناز استفاده شدند. باکتری های اسید لاکتیک از دهان مطابق با کتاب Bergeys (۱۳) شناسایی شدند. در این بررسی pH رشد باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده نیز اندازه گیری شد. برای بررسی اثر بازدارندگی لاکتوباسیل‌ها، علیه سه باکتری اشریشیا کلی PTCC1399، شیگلا فلکسنری RTCC 1872 و سالمونلا پاراتیفی BRTCC1624، از سه روش نقطه گذاری، بلانک دیسک و ایجاد چاهک استفاده شد (۱۴). در بررسی اثر بازدارندگی به روش نقطه گذاری، از سوسپانسیون حاوی باکتری های اشریشیا کلی، شیگلا فلکسنری و سالمونلا پاراتیفی B در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده و سپس ۱۰ میکرو لیتر از کشت مایع صاف شده ۲۴ ساعته لاکتوباسیل به صورت نقطه ای بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد. در بررسی اثر بازدارندگی به روش بلانک دیسک، سوسپانسیون حاوی باکتری‌های اشریشیاکلی، شیگلا فلکسنری و سالمونلا پاراتیفی B در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده و سپس دیسک ها را بر روی محیط گذاشته و ۳۰ میکرولیتر از کشت مایع صاف شده ۲۴ ساعته لاکتوباسیل بر روی دیسک‌ها ریخته شد. در بررسی اثر بازدارندگی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- توزیع فراوانی و ویژگی های افراد مورد پژوهش

گروه سنی	افراد مورد بررسی		مصرف شیرینی			مصرف لبنیات			دفعات مسواک زدن در روز			استفاده از نخ دندان			تعداد دندان پوسیده
	مؤنث	مذکر	هیچ	متوسط	زیاد	هیچ	متوسط	زیاد	هیچ	یکبار	دوبار	سه بار	گاهی	هفتگی	روزانه	
کمتر از ۷ سال	۶	۵	۶	۳	۲	۲	۵	۴	۶	۲	۳					۳
۷-۲۰	۱۰	۷	۴	۹	۴		۱۳	۴	۱	۷	۸	۱	۱۵		۲	۱۱
۲۱-۳۰	۱۲	۵	۶	۱۱		۶	۱۰	۱	۱	۷	۸	۱	۷	۴	۷	۱۴
۳۱-۵۰	۹	۷	۵	۱۰	۱	۴	۸	۴		۹	۷		۱۱	۱	۴	۱۳
بیشتر از ۵۰ سال	۱۲	۲	۱۰	۴		۳	۹	۲	۱	۳	۵		۹	۱	۴	۷
مجموع٪	٪۶۵/۳	٪۳۴/۷	٪۴۱/۳	٪۴۹/۳	٪۹/۴	٪۲۰	٪۶۰	٪۲۰	٪۱۲	٪۳۷/۳	٪۴۱/۳	٪۲/۷	٪۷۰/۷	٪۸	٪۲۱/۳	٪۶۴

به روش ایجاد چاهک، ابتدا با انتهای پیپت پاستور استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار ایجاد چاهک کرده و سپس سوسپانسیون حاوی باکتری های اشریشیاکلی، شیگلا فلکسنری و سالمونلا پاراتیفی B در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده و سپس ۳۰ میکرولیتر از کشت مایع صاف شده ۲۴ ساعته لاکتوباسیل درون چاهک ها ریخته شد. در هر سه روش، محیط‌ها در $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

نتایج

از فروردین ۱۳۸۵ تا مرداد ۱۳۸۵ جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک از دهان افراد انجام گرفت. جدول شماره ۱، تعداد کل نمونه های مورد بررسی را برحسب سن، جنس، مصرف شیرینی و لبنیات، رعایت بهداشت دهان و تعداد دندان پوسیده نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می شود، ۶۴٪ از افراد دارای پوسیدگی دندان و ۲۹/۳٪ فاقد دندان پوسیده و ۶/۷٪ از آن ها دارای دندان مصنوعی بودند. همچنین ۹۳/۳٪ از افراد دارای هر دو نوع تغذیه گیاهی و گوشتی بودند.

پس از جمع آوری نمونه ها توسط سواب از دهان افراد و کشت آن‌ها در محیط MRS براث و انتقال کلنی ها به محیط MRS آگار، در بعضی نمونه‌ها دو نوع کلنی ایجاد شد که یک سری کلنی‌های کوچک ،صاف، براق و مات و یک سری کلنی های ریز و سفید بودند. پس از رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ باسیل‌های گرم مثبت، بدون اسپور، فاقد حرکت و کوکسی‌های گرم مثبت مشاهده شدند. باسیل‌ها کاتالاز و اکسیداز منفی، ژلاتین منفی و لسیتیناز مثبت بودند و کوکسی‌های مورد بررسی در محیط استرپتوکوک سلکتیو آگار متعلق به استرپتوکوکوس میوتانس بودند. ۶۷ لاکتوباسیل بر اساس تست تخمیر قندها و خواص بیوشیمیایی و ۸ مورد استرپتوکوک میوتانس بر اساس خواص بیوشیمیایی به دست آمدند. لاکتوباسیل ها شامل شش گونه، لاکتوباسیلوس فرمنتوم (۲۹/۸٪)، لاکتوباسیلوس کازئی (۲۰/۸٪)، لاکتوباسیلوس گاسری (۱۳/۴٪)، لاکتوباسیلوس برویس (۱۴/۹٪)، لاکتوباسیلوس پلانتاروم (۱۱/۹٪) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۸/۹٪) بودند. در جدول شماره ۲، انواع و تعداد لاکتوباسیل های جدا شده در هر گروه سنی نشان داده شده است. در این بررسی، لاکتوباسیل های جدا شده از دهان، در شرایط آزمایشگاهی رشد اشریشیاکلی را متوقف کردند. اما بر روی سالمونلا و شیگلا دارای اثر مهاری ضعیف یا فاقد اثر بازدارندگی بودند. از میان ۶۷ لاکتوباسیل جدا شده، تنها ۲۸ مورد اثر مهاری داشتند. این لاکتوباسیل ها بیشتر از دهان افراد دارای پوسیدگی دندان، جداسازی شدند. pH رشد لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک‌ها حدود ۳/۴-۶/۵ بود و کمترین pH مربوط به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیشترین pH مربوط به لاکتوباسیلوس فرمنتوم بود.

بحث

در این بررسی، نمونه برداری از بزاق و اطراف دندان ۷۵ نفر در گروه های مختلف سنی توسط سواب انجام شد. با توجه به این که در دهان تمام افراد، باکتری‌های اسید لاکتیک در پوسیدگی دندان نقش دارند، هدف از این پژوهش یافتن باکتری های اسید لاکتیک موجود در دهان افراد بود. در سال ۲۰۰۵ Motisukic و همکاران، برای جداسازی لاکتوباسیل‌ها و استرپتوکوک‌های دهانی، به بررسی سه روش جمع آوری بزاق با سواب، جمع آوری دو میلی لیتر بزاق و جمع آوری پلاک از سطوح دندان ها پرداختند و برای

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۲: فراوانی و نسبت در صد لاکتوباسیل های جدا شده در دهان افراد مورد پژوهش

گروه سنی	انواع لاکتوباسیلوس	لاکتوباسیلوس فرمنتوم	لاکتوباسیلوس کازئی	لاکتوباسیلوس برویس	لاکتوباسیلوس گاسری	لاکتوباسیلوس پلانتاروم	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	جمع کل٪
کمتر از ۷ سال	۹ (٪۱۲)	۲ (٪۲/۶)	۴ (٪۵/۲)	۱ (٪۱/۴)	۱ (٪۱/۴)	-	۱ (٪۱/۴)	۱۱ (٪۱۴/۶)
۷-۲۰ سال	۱۳ (٪۱۷/۳)	۷ (٪۹/۳)	۴ (٪۵/۲)	۲ (٪۲/۶)	-	۱ (٪۱/۴)	-	۱۷ (٪۲۲/۶)
۲۱-۳۰ سال	۱۷ (٪۲۲/۶)	۴ (٪۵/۲)	۲ (٪۲/۶)	۱ (٪۱/۴)	۳ (٪۴)	۳ (٪۴)	۳ (٪۴)	۱۷ (٪۲۲/۶)
۳۱-۵۰ سال	۱۵ (٪۲۰)	۶ (٪۸)	۲ (٪۲/۶)	۴ (٪۵/۲)	۱ (٪۱/۴)	۲ (٪۲/۶)	-	۱۶ (٪۲۱/۳)
۵۱ سال به بالا	۱۳ (٪۱۷/۳)	۱ (٪۱/۴)	۲ (٪۲/۶)	۲ (٪۲/۶)	۴ (٪۵/۲)	۲ (٪۲/۶)	۲ (٪۲/۶)	۱۴ (٪۱۸/۶)
جمع	۶۷ (٪۸۹/۳)	۲۰ (٪۲۶/۶)	۱۴ (٪۱۸/۶)	۱۰ (٪۱۳/۳)	۹ (٪۱۲)	۸ (٪۱۰/۶)	۶ (٪۸)	۱۰۰

یافتن استرپتوکوکوس میوتانس از محیط SB20 و برای مشاهده لاکتوباسیل ها از محیط Rogosa Agar و نگهداری در حرارت ۳۷°C به مدت ۴۸ ساعت استفاده نمودند. محققین یاد شده نتیجه گرفتند برای ردیابی لاکتوباسیل در دهان، بهترین روش، جمع آوری بزاق به مقدار زیاد و برای یافتن استرپتوکوکوس میوتانس، هر دو روش جمع آوری مقدار زیاد بزاق و پلاک دندانی می‌باشد (۱۵).

در این بررسی، از ۷۵ نمونه جمع آوری شده، ۶۷ نوع لاکتوباسیلوس جدا شد. لاکتوباسیل‌ها شامل شش گونه؛ لاکتوباسیلوس فرمنتوم (٪۲۹/۸)، لاکتوباسیلوس کازئی (٪۲۰/۸)، لاکتوباسیلوس گاسری(٪۱۳/۴)، لاکتوباسیلوس برویس(٪۱۴/۹)، لاکتوباسیلوس پلانتاروم (٪۱۱/۹)، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (٪۸/۹) بودند و ۸ مورد استرپتوکوکوس میوتانس شناسایی شد که ٪۶۴ افراد دارای دندان پوسیده و ٪۲۹/۳ فاقد دندان پوسیده و ٪۶/۷ آن‌ها دارای دندان مصنوعی بودند. در سال ۲۰۰۲، Krishnakumd و همکاران با جمع‌آوری بزاق از ۱۰ کودک دارای پوسیدگی دندان و فاقد پوسیدگی نشان دادند که استرپتوکوکوس میوتانس در آغاز پوسیدگی و لاکتوباسیل ها ادامه دهنده پوسیدگی دندان می‌باشند (۱۶).

Hojo و همکاران در سال ۲۰۰۳ موفق شدند لاکتوباسیلوس پاراکازئی، لاکتوباسیلوس گاسری و لاکتوباسیلوس فرمنتوم را از افرادی که دارای دندان پوسیده و بدون دندان پوسیده جدا کنند (۱۷).

در سال ۲۰۰۷، Strahinic و همکاران به بررسی لاکتوباسیل‌های جدا شده از دهان انسان به عنوان سویه‌های پروبیوتیک پرداختند. آن‌ها نمونه‌ها را از چهار قسمت مختلف حفره دهانی جدا کردند و با توالی یابی ژن‌های 16S rDNA و واکنش‌های زنجیره ای پلیمراز (PCR) به تعیین گونه ها پرداختند. گونه‌های غالب جدا شده شامل لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس سالیواریوس و لاکتوباسیلوس پارا کازئی زیرگونه پاراکازئی بودند. همچنین گونه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس سلوبیوسوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه لاکتیس و لاکتوباسیلوس گاسری وجود داشتند (۱۸).

لاکتوباسیل های جدا شده در این بررسی با لاکتوباسیل‌های جدا شده در پژوهش های انجام شده در سایر کشورها تا حدی یکسان بود و احتمالاً دلیل تفاوت های اندک آن نیز می تواند به دلیل متفاوت بودن نوع رژیم غذایی در کشورهای مختلف باشد. با توجه به این که نمونه ها از کودکان بالای دو سال گرفته شد و آن ها دارای تغذیه مشابه با بزرگسالان بودند، بنابراین لاکتوباسیل‌های

www.SID.ir

Archive of SID

جدا شده در این گروه سنی، نیز مشابه با بزرگسالان بود. در این پژوهش، مصرف شیرینی و لبنیات در نمونه های جمع آوری شده بررسی شد و با توجه به این که ۶۴٪ از نمونه های جمع آوری شده دارای دندان پوسیده بودند، ۵۲٪ از آن ها دارای مصرف شیرینی به طور متوسط و ۱۲/۵٪ از آن ها دارای مصرف زیاد و ۳۵/۵٪ از آن ها دارای مصرف کم شیرینی بودند. همچنین، ۶۲/۵٪ از آن ها دارای مصرف متوسط و ۲۷٪ دارای مصرف کم و ۱۰/۵٪ دارای مصرف زیاد لبنیات بودند. از این رو می توان نتیجه گرفت که مصرف رژیمی قند و لبنیات به احتمال زیاد در پوسیدگی دندان نقش دارند. باید توجه داشت که لبنیات به دلیل دارا بودن کلسیم، باعث استحکام مینای دندان می‌شود. اما به علت داشتن میکروارگانیسم‌های تخمیری، دو مطلب قابل توجه است. یکی این که میکروارگانیسم‌های تخمیری موجود در لبنیات از یک جهت به خاطر دارا بودن خاصیت پروبیوتیکی برای بدن و دستگاه گوارش مفید هستند و از طرفی به دلیل کاهش pH دهان شرایط برای ایجاد پوسیدگی دندان را فراهم می کنند. بنابراین مصرف لبنیات باید متناسب باشد و پس از مصرف لبنیات ضرورت مسواک زدن و یا شستشو با دهان شویه وجود دارد. همچنین استفاده از مواد قندی می تواند منجر به تولید اسید توسط باکتری‌های دهانی گردد. از جمله این باکتری‌ها می‌توان به استرپتوکوکوس میوتانس و لاکتوباسیل‌ها اشاره نمود که این باکتری‌ها تولید کننده پوسیدگی دندان هستند (cariogenic)، یعنی این باکتری ها با مصرف قند و تولید اسید، مینای دندان را تخریب کرده و باعث پوسیدگی می‌شوند. در سال ۲۰۰۲، Santosm و همکاران، ارتباط بین مصرف روزانه قند، ترکیب پلاک دندانی و پوسیدگی دندان را ارزیابی کردند. نامبردگان مشاهده نمودند که غلظت فلوراید، کلسیم و فسفات معدنی در کودکان دارای پوسیدگی دندان، کمتر است. از طرفی میزان پلی ساکاریدهای نامحلول و استرپتوکوکوس میوتانس در پلاک های دندانی این افراد بیشتر بود. در این صورت می توان نتیجه گیری نمود که مصرف رژیم قندی می تواند ترکیب بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی پلاک دندانی را تغییر دهد (۱۹).

در سال ۲۰۰۷، Caufield و همکاران به بررسی ویژگی‌های لاکتوباسیل‌های جدا شده از بزاق شش خانم دارای پوسیدگی دندان با استفاده از روش های شناسایی ژنتیکی پرداختند. آن ها ۳۰ باکتری جدا شده از هر فرد را بر روی محیط Rogosa کشت دادند و لاکتوباسیل‌ها را آنالیز کردند. از ۱۸۰ مورد، ۱۷۶ مورد به وسیله بیوتیپ، نقطه ذوب DNA، ژنوتیپ و فیلوژنیک شناسایی شدند و لاکتوباسیلوس واژینالیس، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس سالیواریوس از چهار نفر از شش مورد جداسازی شدند. این بررسی نشان می دهد که لاکتوباسیل های مداخله کننده در پوسیدگی دندان از عوامل خارجی و فرصت طلب هستند که همراه با غذا و دیگر مواد خارجی وارد دهان می شوند (۲۰).

در این پژوهش، pH رشد لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که لاکتوباسیل‌های مورد بررسی pH حدود ۶/۵ - ۳/۴ را دارند. این امر نشان می دهد که لاکتوباسیل‌ها و استرپتوکوک‌های دهانی اسید دوست هستند و شرایط اسیدی را به راحتی تحمل می کنند. در بررسی حاضر، اثر بازدارندگی لاکتوباسیل‌ها بر روی سه باکتری اشریشیا کلی، سالمونلا و شیگلا بررسی شد. اما لاکتوباسیل های جدا شده فقط بر روی اشریشیا کلی اثر بازدارندگی داشتند و بر روی سالمونلا و شیگلا، یا فاقد اثر مهاری بودند یا اثر مهاری بسیار ضعیفی داشتند. Smith و دیگر همکاران در سال ۲۰۰۱، لاکتوباسیل های جدا شده از افراد دارای دندان پوسیده که شامل لاکتوباسیلوس برویس، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس جانسونی، لاکتوباسیلوس سالیواریوس و لاکتوباسیلوس گاسری بود را برای تولید باکتریوسین علیه اشریشیا کلی، گونه‌های سالمونلا، شیگلا دیسانتری، شیگلا سونئی، کلبسیلا، کمپیلوباکتر بررسی کردند. تمام لاکتوباسیل‌ها به جز لاکتوباسیلوس جانسونی، علیه حداقل یکی از ارگانیسم ها، تولید باکتریوسین می کردند(۲۱). همچنین Almendarez در سال ۲۰۰۰ مشخص کرد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه پاتوژن‌های غذایی تولید باکتریوسین می کند (۱۴).

در سال ۲۰۰۷، Strahinic و همکاران مشخص کردند که لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از حفره دهانی که شامل لاکتوباسیلوس سالیواریوس BGHO1، لاکتوباسیلوس فرمنتوم BGHO36 و BGHO64، لاکتوباسیلوس گاسری BGHO89، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه لاکتیس BGHO99 بودند بر روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس، انتروکوکوس فکالیس، میکروکوکوس فلاووس، سالمونلا انتریدیس، استرپتوکوکوس نمونیه، استرپتوکوکوس میوتانس اثر آنتاگونیسمی دارند اما بر روی رشد کاندیدا آلبیکنس اثری نداشتند (۱۸).

با توجه به نتایج به دست آمده از این بررسی، مشخص شد که لاکتوباسیل‌ها جزء میکروفلورای ثابت دهان هستند و انواع

www.SID.ir

Archive of SID

لاکتوباسیل را می توان از دهان جدا سازی کرد که این مسأله بیشتر مربوط به نوع تغذیه افراد می شود و همان طور که مشخص شد ۹۳/۳٪ از افراد دارای هر دو نوع تغذیه گیاهی و گوشتی بودند. لاکتوباسیل ها اگرچه به عنوان عامل ثانویه در پوسیدگی دندان نقش دارند اما از طرفی جزء میکروارگانیسم های پروبیوتیک نیز هستند و با تولید مواد بازدارنده از رشد پاتوژن ها جلوگیری می‌کنند. عامل اولیه در ایجاد پوسیدگی دندان، استرپتوکوکوس میوتانس است که با رعایت نکردن شرایط بهداشت دهان، مصرف کم لبنیات، مصرف زیاد شیرینی و شرایط دیگری مانند سن و جنس دندان، شرایط برای رشد این باکتری‌های میکروفلورای دهانی فراهم می‌شود. همچنین تولید اسید حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها، شرایط مناسبی را برای فعالیت سایر باکتری‌ها به ویژه لاکتوباسیل‌های ایجادکننده پوسیدگی دندان فراهم می کند.

نتیجه گیری

باکتری‌های گرم منفی روده‌ای به ویژه سالمونلا، شیگلا و اشریشیاکلی از مهم ترین عوامل ایجادکننده بیماری ناشی از غذا و اسهال به ویژه در کشورهای در حال توسعه می باشند. از طرفی چون مقاومت‌های دارویی در این باکتری‌ها روز به روز افزایش می‌یابد، لذا امروزه از خواص رقابتی باکتری‌های پاتوژن با باکتری‌های پروبیوتیک از جمله باکتری های اسید لاکتیک و به خصوص لاکتوباسیلوس جهت ممانعت از رشد آن ها استفاده می‌شود. برای جلوگیری از ایجاد پوسیدگی دندان، رعایت تمام نکات از جمله رعایت بهداشت دهان، مصرف کم شیرینی، استفاده بیشتر از لبنیات، و نوع تغذیه را باید در نظر گرفت و رعایت یک نکته به تنهایی برای پیشگیری از پوسیدگی دندان کافی نیست.

پیشنهادات

۱. استفاده از باکتری های اسید لاکتیک، به ویژه لاکتوباسیل‌های دارای خاصیت ضد میکروبی به عنوان آغازگر در غذاهای تخمیری مانند لبنیات، سوسیس و کالباس.

۲. استفاده از شیوه های غیر آنتی بیوتیکی برای از بین بردن عفونت و استفاده از باکتری‌های غیر پاتوژن و پروبیوتیک.

۳. ساختن و ارائه خمیر دندان‌هایی که علاوه بر فلوراید دارای خاصیت پروبیوتیکی و خواص ضد میکروبی علیه باکتری‌های ایجادکننده پوسیدگی دندان باشند.

Refrences

1. Russell, R.R.B. Oral infections: In sussman max: Molecular Medical Microbiology. 2002;Vol 2. 1065.
2. Nester, E. W., Roberts C., Pearsall N. (1998). Microbiology: A human Perspective. WCB McGraw - Hill, Boston. See information in: http://sciweb.hfcc.edu/Biology/jacobs/micro/caries/caries.htm#9
3. Holt J. G., Kreig N. R., Sneath P., Staley J., and Williams S. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Nineth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore. See information in: http://sciweb.hfcc.edu/Biology/jacobs/micro/caries/caries.htm#9
4. Topley and Wilson's. Microbiology and Microbial Infections . 2005;Vol 1. 848-881.
5. De Vuyst L. (1994). Bacteriocins and bacteriocin like substances from lactobacillus. P: 319-329. In De Vuyst and Vandamme E.J. (ed): Bacteriocins of lactic acid bacteria. Genetics and application. Blackie Academic and professional London.
6. Wood B. J. B., (1992): The lactic acid bacteria, vol 1. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Applied Science: UK.
7. Makras L, Triantafyllou V, Fayol-Messaoudi D, Adriany T, Zoumpopoulou Tsakalidou E, Servin A, De Vuyst L Res Microbiol. Kinetic analysis of the antibacterial activity of probiotic lactobacilli towards Salmonella enterica serovar Typhimurium reveals a role for lactic acid and other inhibitory compounds. 2006;157 (3): 241-7.
8. Vanderhoof J. A., Whitney D. B., Antonsson D. L., Hanner T. L., Lupo J. V. & Young R. J. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. Journal of Pediatrics.1999;135, 564-8.
9. Arvola T., Laiho K., Torkkeli S., Mykk?nen H., Salminen S., Maunula L. et al. Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. Pediatrics.1999;104, 64.
10. Reid G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. American Journal of Clinical Nutrition. 2001;73, Suppl., 437-43.
11. Famularo G., Pieluigi M., Coccia R., Mastroiacovo P. & De Simone C. (2001). Microecology, bacterial vaginosis and probiotics: perspectives for bacteriotherapy. Medical Hypotheses 56, 421-30.
12. Comelli E. M., Guggenheim B., Stingele F. & Neeser J. R. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. European Journal of Oral Sciences. 2002;110, 218-24.
13. Kanlder O, Weiss N. Regular, non-sporing Gram positive rids. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Eilkins, USA. 1986;Vol. 2. Section 14. 1208-1260.
14. Garcia - Almendarez B E., Regalado - Gonzalez C I J. Detection and partial purification of a bacteriocin produced by

www.SID.ir

Archive of SID

Lactobacillus plantarum BAL-1 isolated from locally kefir. Division De Estudies De Posgrade., 2000;pp: 1.
15. Motisuki C, Lima LM, Spolidorio DM, Santos-Pinto L. Arch Oral Biol . Influence of sample type and collection method on Streptococcus mutans and Lactobacillus spp. counts in the oral cavity. 2005;50(3): 341-5.
16. Krishnakumar R, Singh S. Indian Soc Pedod Prev Dent . Composition of levels of mutans streptococci and lactobacilli in children with nursing bottle caries, rampant caries, healthy children with 3-5 dmft/DMFT and healthy caries free children. 2002;20(1): 1-5.
17. Hojo K., Taketomo N., Ohshima T. (2003). 0492 Lactobacillus species isolated from the mouths Healthy Subjects.
18. Strahinic I, Busarcevic M, Pavlica D, Milasin J, Golic N, Topisirovic L. Molecular and biochemical characterizations of human oral lactobacilli as putative probiotic candidates. 2007,22(2): 111-7
19. Nobre dos Santos M, Melo dos Santos L, Francisco SB, Cury JA. Caries Res. Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. 2002 ;36(5): 347-52.
20. Caufield PW, Li Y, Dasanayake A, Saxena D. Diversity of lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries. 2007;41(1): 2-8.
21. Smith SI, Aweh AJ, Coker AO, Savage KO, Abosede DA, Oyedeji KS. Microbios. Lactobacilli in human dental caries and saliva. 2001; 105 (411): 77-85.

www.SID.ir