

## مروری بر روشهای استاندارد اندازه گیری بزاق دهان

کیمیا قدس<sup>۱</sup>، دکتر آرزو علایی<sup>۲</sup>، دکتر بابک معتمد<sup>۳</sup>، دکتر ترانه فرخ نیا<sup>۴</sup>

۱-دانشجوی دانشکده دندانپزشکی، عضو مرکز تحقیقاتی مواد دندان، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۲- استادیار، گروه بیماری های دهان و فک و صورت، عضو مرکز تحقیقاتی مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۳- دستیار بیماری های دهان و فک و صورت، عضو مرکز تحقیقاتی مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۴- استادیار، گروه بیماری های دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

وصول مقاله: ۹۹/۵/۳ اصلاح نهایی: ۹۹/۷/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۹/۱۰/۱۲

### Review of Oral Saliva Measurement Standard Methods

Kimia Ghods<sup>1</sup>, Arezoo Alae<sup>2</sup>, Babak Motamed<sup>3</sup>, Taraneh Farrokhnia<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dental Student, Member of Dental Mateiral research Center, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Oral Medicine Dept, Member of Dental Mateiral research Center, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Post Graduate Students, Oral Medicine Dept, Member of Dental Mateiral research Center, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Assistant Professor, Oral Medicine Dept, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: August 2021 ; Accepted: January 2021

#### Abstract

**Background and Aim:** At present, there are various methods for performing diagnostic tests. Due to the fact that saliva is easily available compared to other body fluids, it can be collected from patients in a non-invasive way and there is no risk of cross-infection because of it, so its use has become more common. Also, the analysis of substances in saliva can be a reflection of a person's oral and systemic conditions. Despite its advantages as a diagnostic fluid, the lack of sufficient information about the methods of collecting and storing samples prevents the repeated use of saliva. In this article, it has been tried to collect the most standard methods of saliva collection, required conditions and supplies, and how to maintain, and provide them to users.

**Material and Methods:** In this review article, data were collected by searching articles which were published between year 2000 and 2020 in domestic and foreign journals, using databases such as: PubMed, PubMed Central, Medline, EBSCO, Google Scholar and Embase with keywords: Saliva, Dry Mouth, Xerostomia, Salivary Determination and Saliva Estimation. Among the relevant authorities, the articles that were cited many times and were more up-to-date, were selected.

**Conclusion:** It seems like using saliva in modern diagnostic tests, makes the diagnosis of many diseases easier, faster and more accurate. The standard methods of saliva collection in this article can be used as a guide for laboratory-clinical researchs by researchers.

**Key words:** Saliva Estimation Test Dry Mouth, Xerostomia, Saliva, Salivary Determination

\*Corresponding Author: arezoo.alae@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2021;18 (2):150-160

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** در حال حاضر، روشهای متنوعی برای انجام تست های تشخیصی وجود دارد. با توجه به اینکه بزاق در مقایسه با سایر مایعات بدن، به راحتی قابل دسترس است، می تواند به روش غیر تهاجمی از بیماران جمع آوری شود و خطر ابتلا به عفونت متقاطع در اثر آن وجود ندارد، لذا استفاده از آن کاربرد بیشتری پیدا کرده است. همچنین، تجزیه و تحلیل مواد موجود در بزاق می تواند بازتابی از شرایط دهانی و سیستمیک فرد باشد. علیرغم مزایای آن به عنوان یک مایع تشخیصی، عدم وجود اطلاعات کافی در مورد روش های جمع آوری و ذخیره نمونه ها، مانع استفاده مکرر از بزاق می شود. در این مقاله سعی شده است، روش های استاندارد جمع آوری بزاق، شرایط و لوازم مورد نیاز و نحوه نگهداری نمونه ها جمع آوری و در اختیار کاربران قرار گیرد.

**مواد و روشها:** در این مقاله مروری، جمع آوری اطلاعات از طریق جستجوی مقالات موجود در ژورنال های داخلی و خارجی، با استفاده از پایگاه های اطلاعاتی چون: PubMed، PubMed Central، EBSCO، Medline، Google Scholar و Embase با واژه های کلیدی Saliva، Dry Mouth، Xerostomia، Salivary Determination و Saliva Estimation Test در فاصله بین سالهای ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۰ صورت گرفت. در بین مراجع مرتبط، تعداد ۳۲ مقاله معتبر که بارها مورد استناد قرار گرفته بودند و به روزتر بودند، انتخاب گردیدند.

**نتیجه گیری:** به نظر می رسد که با استفاده از بزاق در تست های نوین آزمایشگاهی، تشخیص بسیاری از بیماریها راحت تر، سریع تر و دقیق تر می شود. روش های استاندارد جمع آوری بزاق در این مقاله، می تواند به عنوان راهنمای تحقیقات آزمایشگاهی-بالینی توسط محققان قرار گیرد.

**کلید واژه ها:** Saliva، Dry Mouth، Xerostomia، Salivary Determination، Saliva Estimation Test

**مقدمه:**

شود. بعلاوه، حداکثر میزان ترشح بزاق، قبل، هنگام و بعد از غذا می باشد و در حدود ساعت ۱۲ صبح به اوج خود می رسد و شب هنگام، به خصوص زمان خواب، به میزان قابل توجهی کاهش می یابد.<sup>(۲)</sup>

بزاق از انواع الکترولیتها از جمله سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، بی کربنات و فسفات ها تشکیل شده است. همچنین در بزاق ایمنوگلوبولین ها، پروتئین ها، آنزیم ها و محصولات نیتروژن مانند اوره و آمونیاک یافت می شوند. این مواد در عملکرد بزاق نقش عمده ای دارند به عنوان مثال بی کربنات، فسفات و اوره در تعدیل pH و ایجاد حالت بافری موثر هستند، پروتئین های بزاق وظیفه کمک به متابولیسم پلاک دندان و پاکسازی محیط دهان را برعهده دارند، کلسیم، فسفات و پروتئین ها به عنوان یک ضد حلالیت در کنار هم کار می کنند و باعث تعدیل دمیترالیزاسیون دندان ها می شوند و در نهایت ایمنوگلوبولین ها، پروتئین ها و آنزیم ها عملکرد ضد باکتریایی را ارائه می دهند.<sup>(۱)</sup>

به طور کلی عملکرد اصلی بزاق دهان را می توان در پنج بخش

بزاق یک اگزوکراین مخاطی روشن و کمی اسیدی است که از غدد بزاقی مینور و ماژور ترشح می شود و می تواند حاوی باکتریها و مواد غذایی باشد.<sup>(۱)</sup>

غدد بزاقی ترشح کننده بزاق براساس اندازه و ساختار آناتومیک به ۲ دسته مینور و ماژور تقسیم بندی می شوند. غدد بزاقی ماژور شامل: غده بزاقی پاروتید، تحت فکی (Submandibular) و زیر زبانی (Sublingual) می باشد. غدد پاروتید، که روبروی دندان مولر اول فک بالا قرار دارند و غدد تحت فکی و زیر زبانی در کف دهان یافت می شوند. غدد بزاقی مینور نیز در لب، زبان، خلف کام، گونه ها و حلق یافت می شوند.<sup>(۱)</sup>

ترشح روزانه بزاق بین ۵۰۰ تا ۷۰۰ میلی لیتر متغیر است. در هنگام استراحت، ترشح بزاق می تواند ۰/۲۵ تا ۰/۳۵ میلی لیتر در دقیقه باشد که بیشترین مقدار این نوع بزاق توسط غدد تحت فکی و زیر زبانی تولید می شود. تحریک ترشح بزاق می تواند میزان ترشح را به ۱/۵ میلی لیتر در دقیقه برساند که بیشترین حجم این نوع بزاق توسط غدد پاروتید ساخته می

بررسی بزاق دهان به عنوان ابزار تشخیصی جهت تشخیص بیماری های سیستمیک بسیار کارائی داشته و در سال های اخیر علاقه زیادی به استفاده از آن به عنوان ابزار تشخیصی مشاهده شده است.<sup>(۴و۲)</sup> توجه به اصول بررسی و شرایط و روش های اندازه گیری استاندارد جهت کاربرد کلینینس ها بسیار حایز اهمیت می باشد. پژوهشگر جهت سهولت خواننده در ابتدا به بررسی علائم آبژکتیو و اندازه گیری کمی بزاق با متد مختلف می پردازد.

#### معیار های ورود جهت نمونه گیری بزاقی:

- ✓ بیماران باید ۱۸ سال به بالا باشند، زیرا افراد جوان تر از ۱۸ سال ممکن است پرسشنامه را درست متوجه نشده و آن را به درستی پر نکنند. همچنین آنها ممکن است از دستورات لازم حین پروسه نمونه گیری، پیروی نکنند.
- ✓ بیماران باید قادر به خواندن، تکمیل و امضای پرسشنامه باشند.
- ✓ بیماران بهتر است فاقد بیماری های خاص روحی یا جسمی و یا حساسیت و خشکی چشم باشند.

#### معیارهای خروج از نمونه گیری بزاقی:

- ✓ بیمارانی که سن آنها کمتر از ۱۸ سال باشد.
- ✓ بیمارانی که قادر به خواندن یا تکمیل فرم پرسشنامه نیستند.
- ✓ زنان حامله یا افرادی که از بیماری خشکی چشم خود شکایت دارند.
- ✓ بیماران مبتلا به ضایعات دهان، بیمارانی که از بیماری های خود ایمنی رنج می برند، افرادی که مصرف حاد یا مزمن داروهایی که به دلیل خشکی دهان مصرف می شوند را دارند، بیمارانی که تحت پرتو درمانی (عمدتا برای درمان سرطان سر و گردن) قرار گرفته اند، افراد مبتلا به بیماری مزمن پزشکی، در صورتی که به خوبی کنترل نشده باشند و افراد مبتلا به عفونت HIV، هپاتیت B یا هپاتیت C، نیز بهتر است از تست های دیگر تشخیصی استفاده نمایند.<sup>(۷)</sup>

طبقه بندی کرد: (۱) عملکرد حفاظتی (۲) عملکرد بافری و تمیز کردن سطوح دهانی (۳) عملکرد ضد باکتریایی (۴) حفظ تمامیت دندان ها و (۵) موثر در حس چشایی و هضم غذا.<sup>(۱)</sup>

#### مواد و روش ها:

در تهیه مقاله مروری از بانکهای اطلاعاتی همچون PubMed, Pubmed Central, Medline EBSCO, Embase و Google Scholar کمک گرفته شد و تعداد ۸۴ مقاله شامل ۷۲ مقاله انگلیسی و ۱۲ مقاله فارسی در فاصله سالهای ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۰ که دارای حداقل یکی از کلمات کلیدی مانند Saliva Estimation, Xerostomia, Dry Mouth, Saliva Test و Salivary Determination در عنوان خود بودند، انتخاب و مطالعه شدند. سپس براساس سال انتشار، نام نویسنده اول و میزان مرتبط بودن عنوان و هدف مقالات مناسب مورد بررسی قرار گرفتند. در انتها ۲۵ مقاله انگلیسی و ۸ مقاله فارسی برای تجزیه و تحلیل نهایی و نگارش مقاله مروری انتخاب شدند.

#### بحث:

افزایش میزان بزاق دهان به بیش از ۱/۵ لیتر در روز، سیالوره (drooling) نام دارد که بنابر اتیولوژی مختلفی مانند بیماری های خود ایمنی یا عوارض جانبی دارو ها، صورت می گیرد.<sup>(۳)</sup> از سوی دیگر کاهش میزان بزاق به بیش از ۰/۵ لیتر در روز، خشکی دهان (زروستومی) نام دارد. از دلایل ایجاد آن می توان به بیماریهای زمینه ای، پرتوتابی به سروگردن، مصرف سیگار، عوارض دارویی و... اشاره کرد.<sup>(۴)</sup> پژوهشگران جهت تعیین میزان تغییرات بزاق از بررسی علائم سابژکتیو و آبژکتیو بیماران بهره وری می نمایند. در بررسی علائم آبژکتیو به اندازه گیری کمی بزاق با متد مختلف توجه می شود و در بررسی علائم سابژکتیو از پرسشنامه های استاندارد موجود کمک می گیرند.<sup>(۵)</sup>

**شرایط عمومی نمونه گیری بزاق:**

- ✓ حداقل ۱۰ دقیقه پس از شستشو با آب مقطر صبر شود تا از رقیق شدن نمونه قبل از جمع آوری بزاق جلوگیری شود.<sup>(۸)</sup>
- ✓ ۴۵ دقیقه قبل از نمونه گیری جهت جلوگیری از تحریک، شستشوی دندانها با مسواک انجام نشود.
- ✓ از هرگونه کار دندانپزشکی ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری پرهیز شود.
- ✓ از حرکت بی دلیل عضلات سر و صورت جهت پرهیز از تحریک ترشح بزاقی حین نمونه گیری پرهیز شود.
- ✓ در نهایت، ظرف ۶۰ دقیقه پس از جمع آوری نمونه، وعده غذایی اصلی نباید خورده شود.<sup>(۲)</sup>
- ✓ تحت هیچ شرایطی نباید نمونه جمع آوری شده UNIDENTIFIED باقی بماند. زدن برچسب های واضح و خوانا برای شناسایی و سازماندهی مناسب نمونه ها الزامی می باشد.
- ✓ در صورتی که نیاز به انجماد و نگهداری نمونه بزاقی می باشد، از برچسب هایی که برای انجماد توصیه می شود، استفاده شود زیرا برچسب های کاغذی معمولی هنگام ذوب شدن نمونه ها از بین می روند.<sup>(۸)</sup>
- ✓ نمونه ها بلافاصله پس از جمع آوری باید منجمد شوند، زیرا این کار، نمونه را برای استفاده احتمالی در مطالعات بعدی حفظ می کند. در صورت عدم امکان، برای به حداقل رساندن تخریب آنالیت های ناپایدار و جلوگیری از رشد باکتریها، توصیه می شود همه نمونه ها بلافاصله در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شوند و در این درجه حرارت بیش از حد لازم (در حالت ایده آل کمتر از ۲ ساعت) نگهداری نشوند. پس از ۲ ساعت، نمونه ها حتما باید در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد (دمای یک فریزر خانگی معمولی) نگهداری شوند.
- ✓ نمونه های ذخیره شده برای بیش از ۴ ماه باید در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد منجمد شوند. انجماد و سانتریفیوژ همچنین به رسوب دهی موسین در نمونه ها کمک می کند و این کار پیپیتینگ را آسان تر می کند.<sup>(۸)</sup>
- ✓ اتاق نمونه گیری باید آرام، ساکت و ایزوله و مجهز به تهویه و بدون استرس و یا تصاویر پاتولوژیک و رعب آور باشد. وجود بوهای تند مانند مواد دندانپزشکی که سبب ایجاد تهوع و یا افزایش بزاق می شود، در محیط ممنوع است. پوشیدن دستکش، روپوش، شیلد و ماسک برای آزمون گر و استفاده از وسایل نمونه گیری تمیز برای جلوگیری از ایجاد آلودگی ضروری می باشد.
- ✓ ویال هایی که برای جمع آوری نمونه بزاق استفاده می شوند، بهتر است از جنس پلی پروپیلن و در صورت لزوم توزین شده یا استریل باشند. ضمنا توصیه می شود از ویال با دو برابر ظرفیت حجم نمونه مورد نظر استفاده شود.<sup>(۲)</sup>
- ✓ در مواردی که نیاز به فریز کردن نمونه می باشد، در قسمت بالایی ویال برای گسترش بزاق در طول فرایند یخ زدن، فضای هوا باقی باید گذاشته شود. در نهایت، درپوش بر روی کرایو ویال قرار می گیرد.<sup>(۸)</sup>
- ✓ بهتر است نمونه گیری بین ساعت ۸ تا ۱۱ صبح<sup>(۹)</sup> یا ۹ تا ۱۲ صبح<sup>(۱۰)</sup> صورت بگیرد و بیمار در حالت عمودی روی صندلی دندانپزشکی قرار گیرد و حداقل برای پنج دقیقه استراحت نماید.<sup>(۹و۲)</sup>
- ✓ بلافاصله قبل از جمع آوری نمونه از مصرف غذاهای دارای قند یا اسیدیته یا کافئین زیاد خودداری شود، زیرا ممکن است با کاهش pH بزاق و افزایش رشد باکتری ها، روش تشخیصی دقت کافی نداشته باشد.
- ✓ مصرف الکل، کافئین، نیکوتین و داروهای بدون نسخه نیز در عرض ۱۲ ساعت قبل از انجام تست حتما باید به پزشک اطلاع داده شود.
- ✓ فعالیت بدنی شدید و وجود بیماریهای دهانی یا هرگونه زخم و آسیب دیدگی باید در پرونده مستند شود.
- ✓ در مطالعات کار آزمایشی بالینی، هرگونه آلرژی به مواد شوینده و داروئی باید در پرونده بیمار درج شود.
- ✓ قبل از نمونه گیری، دهان باید ترجیحا با آب مقطر شسته شود تا باقیمانده مواد غذایی از بین برود.

**بررسی علائم آبژکتیو جریان بزاق:**

در بررسی علائم آبژکتیو، به اندازه گیری کمی بزاق با مدت مختلف توجه می شود.<sup>(۵)</sup>

**تعریف بزاق تحریکی و غیر تحریکی:**

جریان بزاق زمانی به عنوان استراحت یا بزاق غیر تحریکی نامیده می شود که هیچ گونه تحریک برون زا یا دارویی وجود نداشته باشد و هنگامی که ترشح توسط محرک های مکانیکی یا روده ای یا توسط عوامل دارویی صورت می گیرد، بزاق تحریکی خوانده شود.<sup>(۱۱)</sup>

**اندازه گیری بزاق غیر تحریکی:**

برای اندازه گیری بزاق غیر تحریکی، روشهای زیر وجود دارد:

۱- Drool saliva collection method: این روش به دو فرم در کلیه آنالیزها تأیید شده است.

**روش اول:** برای انجام تست ابتدا درپوش از روی کرایو ویال برداشته می شود. سپس SCA (Saliva Collection Aid) از بسته بندی خارج شده و با دقت در داخل کرایو ویال قرار داده می شود. به فرد آموزش داده می شود که بزاق خود را در دهان جمع نماید (در بعضی افراد تصور خوردن غذای مورد علاقه می تواند مفید باشد). سپس با خم شدن سر فرد به جلو، از طریق SCA بزاق خود را به داخل کرایو ویال هدایت نمایند. این فرایند آنقدر تکرار شده تا نمونه کافی بزاق جمع شود.

در قسمت بالایی ویال برای گسترش بزاق در طول فرایند یخ زدن، فضای هوا وجود دارد. در نهایت، درپوش بر روی کرایو ویال قرار می گیرد.<sup>(۸)</sup> در این روش معمولاً به میزان ۲ میلی لیتر بزاق جمع آوری می شود و معمولاً پس از آن، نمونه بلافاصله روی یخ قرار می گیرد.<sup>(۱۲)</sup>

**روش دوم:** از افراد خواسته می شود از نوشیدن، خوردن هر نوع ماده غذایی، ورزش جسمی و سیگار کشیدن دو ساعت قبل از نمونه گیری خودداری نمایند. سپس یک بار دهان خود را با آب مقطر شستشو داده و به صورت منفعلانه شروع به جمع آوری بزاق غیر تحریکی می کنند. پس از ۱۵ دقیقه، بزاق از لب پایین افراد به داخل یک لوله آزمایش که کیفی در بالای آن چسبیده

است، به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه جاری می شود و حجم بزاق تقریباً ۵ میلی لیتری جمع آوری می شود<sup>(۱۴،۱۳)</sup>

سپس نمونه ها برای حذف ذرات، سانتریفیوژ شده (۵X۱۰۰۰۰g ۵ دقیقه) و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری می شوند.<sup>(۱۳)</sup>

۲- Whole Saliva Collection: جمع آوری کامل بزاق روشی آسان و غیر تهاجمی است. مشخص شده است که در ارزیابی اختلال عملکرد غده بزاقی این روش از نظر بالینی اهمیت بیشتری دارد.<sup>(۳)</sup> هم چنین این روش هم برای جمع آوری بزاق تحریکی و هم غیر تحریکی کاربرد دارد که در اینجا به نوع غیر تحریکی آن پرداخته می شود:

به فرد توصیه می شود از مصرف هر نوع غذا یا نوشیدنی یک ساعت قبل از جلسه آزمون خودداری کند. همچنین سیگار کشیدن، جویدن آدامس و مصرف قهوه در این یک ساعت ممنوع است. به فرد توصیه می شود که چندین بار دهان خود را حداقل به مدت ۱ دقیقه با آب دیونیزه شده یا مقطر بشوید و سپس برای پنج دقیقه استراحت نماید. ضمناً قبل و در طول پروسه نمونه گیری باید حرکات بدنی به حداقل برسد و قبل از شروع فرآیند نمونه گیری، تمام بزاق باقی مانده در دهان خود را ببلعد. سپس سر خود را به لوله و کیف متصل تکیه داده و دهان خود را کمی باز نگه دارد و بزاق را داخل لوله تخلیه نماید. توصیه می شود چشمان فرد باز باشد. در پایان، درخواست می شود بزاق دهانی که در دهان باقی مانده را به درون لوله آزمایش تخلیه نماید.<sup>(۱۵،۱۴)</sup>

در این روش کل بزاق غیر تحریکی به میزان ۵ میلی لیتر در زمان ۵ دقیقه در یک لوله پلاستیکی به حجم ۵۰ میلی لیتر که از قبل توزین، خشک، دیونیزه و استریل شده، جمع آوری می شود. سپس می توان با کم کردن وزن لوله خالی از وزن لوله پر از بزاق، وزن نمونه بزاق را تعیین و نرخ جریان بزاق براساس گرم بر دقیقه یا میلی لیتر بر دقیقه محاسبه نمود. در نهایت نمونه ها ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و بلافاصله در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد ذخیره خواهند شد.<sup>(۱۶-۱۸)</sup>

از دستگاه های دیگری همچون Wolff Collector<sup>۱</sup> (شکل ۴)<sup>(۱۴)</sup> نیز می توان برای جمع آوری بزاق این غدد استفاده کرد، بدین صورت که ابتدا یک پیپت استریل ۱۰۰ میکرو لیتری به نوک دستگاه و یک لوله جمع آوری کننده مخروطی پلاستیکی به بدنه نصب می شوند. سپس از افراد خواسته می شود که دهان خود را ۱ دقیقه با آب مقطر شستشو دهند. در مرحله بعد، اسفنج های پنبه ای استریل را در کف دهان و روی مخاط باکال برای جلوگیری از خروج ترشحات غدد پاروتید و زیر زبانی قرار داده و در نهایت بزاق تحریک شده از غدد تحت فکی با قرار دادن میکروپیپت در دهانه مجرای وارنون جمع آوری می شود. سپس به روش مشابه ترشحات غدد زیر زبانی را می توان جمع آوری کرد.<sup>(۱۴،۱۸،۱۹)</sup>

ب) بزاق غدد فرعی: بزاق غدد باکال با استفاده از روش Periapaper/Sialopaper Absorbent دستگاه جمع آوری کننده بزاق غدد زیر زبانی و تحت فکی نوارهای مخصوص کاغذی که ۰ تا ۱/۲ میکرو لیتر مایعات را جذب یا حمل می کنند.

جمع آوری می شود، در حالیکه بزاق ناحیه غدد خلف کام با استفاده از کاغذ فیلتر یا روش پیپت جمع آوری می شود.<sup>(۲)</sup> برای جمع آوری ترشحات غده بزاقی فرعی مخاط لب پایین، ابتدا با استفاده از رترکتور گونه به ناحیه دسترسی مناسب پیدا کرده. سپس مخاط لب تحتانی با رول پنبه ایزوله شده، ۳ مرتبه با اسپری آب شسته و خشک می شود و در مرحله بعد، با رول پنبه های جدید ایزوله می شود. جریان بزاق با استفاده از محلول ۰.۵٪ اسید سیتریک یک اپلیکاتور که در مرز جانبی زبان ریخته می شود، تحریک شده و هنگامی که قطرات ترشحاتی روی مجرای غده ای شکل گرفت، نمونه با استفاده از نوک پیپت میکرولیتری پلاستیکی متصل به پیپت گیلسون جمع آوری می شود. در نهایت، مایع درون یک لوله ۱/۵ میلی لیتری پلی پروپیلن اپندورف تخلیه می شود.<sup>(۲۰)</sup> مقدار بزاق را نیز می توان با پریوترن تعیین کرد.<sup>(۲)</sup>

۴-Modified Schimer TEST: در این روش کل بزاق غیر تحریکی توسط نوار کاغذی شیرمر اندازه گیری می شود. انجام

۳- Glandular Saliva Collection: در این روش بزاق مترشحه توسط غدد بزاقی اندازه گیری می شود که در اینجا به انواع بزاق غیر تحریکی جمع آوری شده می پردازیم:

الف) بزاق تحت فکی و زیر زبانی: بزاق این غدد را می توان با استفاده از کانولاسیون یا Segregator Method و یا Suction Method جمع آوری کرد که از بین آنها روش ساکشن از بقیه راحت تر است.

✓ روش ساکشن: در این روش با مسدود کردن مجرای استنسن با استفاده از رول پنبه یا Lashley Cup<sup>۱</sup> (شکل ۳)<sup>(۱۹)</sup> صورت می گیرد. سپس، بزاق جمع شده در کف دهان با استفاده از سرنگ یا میکروپیپت یا با مکش ملایم آسپیره می شود. دستگاه مکش مورد استفاده ممکن است دستگاه مکش دندانپزشکی، پمپ وکیوم قابل حمل و یا دستگاه مکش آزمایشگاهی باشد.

✓ کانولاسیون: از لوله های پلی اتیلن مخروطی می توان برای کانولاسیون مجرای وارنون استفاده کرد.

<sup>۱</sup> وسیله ای که برای جمع آوری مداوم بزاق تولید شده توسط غدد بزاقی پاروتید استفاده می شود.

اما از آنجا که این مجرا نازک و مستعد پارگی است، این روش معمولاً استفاده نمی شود.

✓ روش تفکیک کننده: در این روش از دستگاهی که قادر به جمع آوری بزاق تحت فکی و زیر زبانی با محرک های مناسب است، استفاده می شود. دستگاه جمع کننده روی فک پایین قرار گرفته و لوله پلی اتیلنی محفظه را به لوله جمع کننده وصل می کند. دستگاه باید دارای فضای محیطی کافی و احتباس مناسب برای به حداقل رساندن احتمال مخلوط شدن بزاق غده تحت فکی و زیر زبانی و از بین بردن آلودگی توسط بزاق پاروتید باشد. اتاق مرکزی بزاق غده تحت فکی را جمع می کند، در حالی که دو اتاق جانبی بزاق غده زیر زبانی را جمع می کنند. این روش زمان بر است زیرا دستگاه باید به صورت جداگانه برای هر فرد تنظیم شود.<sup>(۲)</sup>

بزاق جمع آوری شده (وزن یا حجم) بر مدت زمان جمع آوری نمونه (۵ دقیقه) محاسبه و در صورت لزوم PH بزاق نیز توسط PH متر اندازه گیری می شود.<sup>(۲۳)</sup>

۲- Glandular Saliva Collection (نوع تحریکی): دهانه مجرای غده پاروتید در روبروی مولر اول و دوم ماگزینا قرار دارد. جریان بزاق این غده تحت توسط محرک اسیدی جمع آوری می شود. با اضافه کردن محلول اسید سیتریک (۲-۴٪ وزن / حجم) به سطح پشتی زبان تحریک این غده صورت می گیرد. بزاق پاروتید با استفاده از یک کانول یا Lashley Cup یا دستگاه اصلاح شده Carlson Crittenden جمع آوری می شود.<sup>(۱۴)</sup> دستگاه فوق دارای یک محفظه بیرونی و داخلی است. محفظه داخلی به یک لوله پلاستیکی و محفظه بیرونی از طریق لوله پلاستیکی به یک وسیله مکش وصل می شود و فنجان روی دهانه مجرا قرار می گیرد. به طور متوسط ۱ تا ۵ میلی لیتر بزاق پاروتید در مدت زمان ۱۰-۱۵ دقیقه قابل جمع آوری است. این روش پیچیده، کند و تهاجمی می باشد. همچنین نیاز به پرسنل ماهر و متخصص دارد، زیرا این کار با استفاده از دستگاه های مخصوص جمع آوری بزاق نزدیک دهانه مجاری غدد انجام می شود.<sup>(۱۸،۱۴،۲)</sup>

۳- Spitting Method: در این روش از فرد خواسته می شود که اجازه دهد بزاق در کف دهان تجمع یابد و آن را درون لوله های آزمایشی از قبل توزین شده، تخلیه کند. از آنجا که ممکن است در برخی موارد این روش اثر تحریکی داشته باشد، از این رو نمی توان از آن برای اندازه گیری بزاق غیر تحریکی استفاده کرد. از مزایای این روش کاربرد آن، در کاهش تولید جریان بزاق در افراد مبتلا به خشکی دهان است.<sup>(۲۳،۲)</sup>

۴- Swabbing Method: این روش به کمک اسفنج گاز مصنوعی، سواب از قبل توزین شده یا پد پنبه ای انجام می شود به گونه ای که ابتدا یک رول پنبه یا اسفنج یا گاز استریل ۱۰ در ۱۰ سانتی متر مربع از وسط تا زده شده و در یک لوله پلاستیکی ۶۰ میلی لیتری استریل قرار داده می شود و با هم توزین می شوند. سپس گاز / اسفنج / رول پنبه در مدخل غدد بزاقی اصلی (پاروتید / کف دهان) به مدت دو دقیقه قرار می

این روش آسان، کم هزینه و در زمان کوتاه انجام می شود برای بیماران مسن و مبتلایان به بیماریهای زمینه ای کارائی دارد.

از فرد درخواست می شود که از خوردن غذا، نوشیدن و سیگار کشیدن ۲ ساعت قبل از تست خودداری نماید. سپس به صورت قائم روی صندلی دندانپزشکی بنشیند و یک بار برای پاک کردن دهان، تمام بزاق دهان خود را قورت دهد.

سپس به آرامی زبان خود را به بالا و عقب ببرد تا از خیس کردن غیر عمدی نوار تست شیرمر جلوگیری شود. نوار به کمک انبر یا پنس دندانپزشکی عمودی نگه داشته می شود، در حالی که ته کاغذ در تماس با کف دهان (طرف راست یا چپ فرنوم زبانی) می باشد.<sup>(۲۱)</sup> در این پروسه، رنگ نوار به علت تماس با رطوبت بزاق به قهوه ای تغییر رنگ پیدا می کند و طول این منطقه قهوه ای رنگ نوار برحسب میلی متر در فواصل ۱، ۲ و ۳ دقیقه ثبت می شود. اگر طول این منطقه کمتر از ۲۵ میلی متر در مدت ۳ دقیقه باشد، بیانگر کاهش سرعت جریان بزاق در بیمار و خشکی دهان می باشد.<sup>(۲۲،۲۱)</sup>

### اندازه گیری بزاق تحریکی:

انواع روش های اندازه گیری بزاق تحریکی عبارتند از:  
۱- Whole Saliva Collection (نوع تحریکی): فرد باید بدون حرکت نشسته و سر خود را به جلو حرکت دهد. حتما قبل از شروع فرآیند، تمام بزاق باقی مانده در دهان خود را ببلعد. سپس از بیمار خواسته می شود که آدامس را با توجه به سرعت متروном، بچود (تقریباً ۷۰ ضربه در دقیقه) و هر یک دقیقه یکبار، بدون اینکه بلع صورت بگیرد، بزاق خود را داخل لوله تخلیه نماید. (یک لیوان پلاستیکی یا کاغذی ممکن است برای این منظور استفاده شود). پس از ۱ دقیقه جویدن بیمار، این فرآیند دوباره تکرار می شود. سپس اطلاعات مجموعه دو دقیقه اول کنار گذاشته می شود و پروسه سه دقیقه ی دیگر ادامه می یابد. پس از اتمام ۵ دقیقه، از بیمار درخواست می شود که بزاق و آدامس را داخل لوله تخلیه نماید.

قبل از توزین لوله و قیف، حتما آدامس از لوله خارج می شود.<sup>(۱۲،۱۴،۲۳،۲۴)</sup> در پایان میزان جریان بزاق با تقسیم مقدار

نماید. پس از برداشت بزاق، سواب درون محفظه امن قرار می گیرد. سپس یک لوله میکرو گنجانیده شده درون دستگاه، بزاق را به طور مستقیم به ظرف نهایی سانتریفیوژ می نماید. این روش احتمال آلودگی نمونه با ذرات معلق در هوا را کاهش می دهد.

✓ Verofy: روش منحصر به فردی است که با استفاده از ایمونوکروماتوگرافی با کیفیت بالا نتایج را به صورت فوری تحویل می دهد.<sup>(۲)</sup>

#### بررسی علائم سابژکتیو جریان بزاق:

پژوهشگران از پرسشنامه های پژوهشگر ساخته یا استاندارد موجود جهت بررسی سابژکتیو جریان بزاق کمک می گیرند. این پرسشنامه ها به تشخیص آسان و سریع خشکی دهان کمک می نمایند.

۱- پرسشنامه فاکس (fox questionnaire): پرسشنامه‌ی استاندارد بوده و قابلیت تعمیم پذیری آن قبلاً اثبات شده است. این پرسشنامه شامل ده سؤال بله / خیر می باشد. اگر فردی به چهار سؤال از ۱۰ سؤال فوق، پاسخ مثبت دهد، می توان نتیجه گرفت که فرد به بیماری خشکی دهان یا زروستومی مبتلا است. ضمناً از این پرسشنامه می توان جهت پیگیری وضعیت بیمار، فالوآپ های درمانی یا پاسخ به دارودرمانی و مداخله های کارآزمایی نیز قبل و پس از درمان استفاده نمود.<sup>(۱۶، ۲۵-۳۰)</sup>

۲- پرسشنامه اصلاح شده فاکس (modified fox questionnaire): جهت تسهیل کاربردی پرسشنامه، اصلاحاتی روی پرسشنامه فاکس صورت گرفت و تعداد سوالات به ۶ عدد کاهش یافت.<sup>(۷، ۲۲، ۳۰)</sup>

۳- پرسشنامه وجود زروستومی

(The Xerostomia Inventory questionnaire): Thomson، این پرسشنامه ۱۱ سؤالی را جهت سنجش میزان و شدت خشکی دهان در بیماران مبتلا به زروستومی ارائه داد که در آن بیمار می تواند از بین ۵ گزینه هیچوقت (امتیاز ۱)، به ندرت (امتیاز ۲)، معمولاً (امتیاز ۳)، اکثر اوقات (امتیاز ۴) و همیشه (امتیاز ۵)، یکی را انتخاب نماید. در انتها، امتیاز کلی

گیرد. سپس برداشته شده و در یک لوله آزمایش استریل قرار گرفته و دوباره توزین می شود. سپس می توان با کم کردن وزن لوله خالی از وزن لوله پر از بزاق، وزن نمونه بزاق را تعیین و نرخ جریان بزاق براساس گرم بر دقیقه یا میلی لیتر بر دقیقه، محاسبه نمود.

اگرچه این روش از اعتبار کمتری برخوردار است، اما به ارزیابی میزان خشکی دهان کمک می کند. همچنین این تست عمدتاً برای نظارت بر سطح داروها، هورمونها یا استروئیدها استفاده می شود.<sup>(۲۶ و ۲۵)</sup>

#### روشهای جدید تعیین میزان بزاق:

علاوه بر روش های مذکور، امروزه تکنیک های جدید تری نیز ابداع شده اند که عمدتاً حاصل ایجاد اصلاحاتی در روش های قدیمی هستند که تعدادی از آنها شامل Saligene، Oragene و Verofy می باشند.

✓ Oragene: تکنیک بسیار پیشرفته ای است که در آن مواد نگهدارنده برای محافظت از یکپارچگی نمونه اضافه می شوند. همچنین کیت این مجموعه، یک کیت تجاری در دسترس است که برای جداسازی RNA از بزاق طراحی شده است. در این روش به شرکت کنندگان دستور داده می شود که دندانهای خود را روی سطح زبان و بزاق جمع آوری شده طبق دستورالعمل کیت بچرخانند.<sup>(۲۷)</sup> سپس RNA از ۲۵۰ میلی لیتر نمونه بزاق استخراج می شود. معمولاً به جمع آوری ۰/۵ میلی لیتر بزاق برای انجام مطالعات ژنتیکی نیاز می باشد.<sup>(۲)</sup>

✓ Saligene: یک روش جایگزین است که در آن یک لوله جمع آوری کننده، بزاق را با یک حجم از پیش تعیین شده خارج کرده و وارد یک محفظه می نماید. سپس با فشار دادن یک پیستون، درپوشی روی آن قرار گرفته و فشار محفظه بالاتر می رود. این فشار، بافری را درون نمونه آزاد می کند و باعث می شود نمونه تا زمان ارسال برای پردازش بیشتر نگهداری شود.<sup>(۲۸)</sup>

✓ Oracol: مبتنی بر جمع آوری بزاق از طریق یک سواب فوم جاذب است که تا ۱ میلی لیتر بزاق را جذب می



۵- پرسشنامه Pai et al: این پرسشنامه دو جنبه اصلی جریان بزاق، یعنی خشکی مخاط دهان و عملکردهای دهانی که تحت تأثیر احساس خشکی دهان قرار می گیرند را ارزیابی می کند. (۴) علاوه بر این، دو موضوع مهم در خصوص خشکی دهان یعنی مقدار بزاق و سطح تشنگی، نیز آنالیز می شوند. (۳۳)

#### نتیجه گیری:

به نظر می رسد که با استفاده از بزاق در تست های نوین آزمایشگاهی، تشخیص بسیاری از بیماریها راحت تر، سریع تر و دقیق تر می شود. روش های استاندارد جمع آوری بزاق در این مقاله، می تواند به عنوان راهنمای تحقیقات آزمایشگاهی- بالینی توسط محققان قرار گیرد.

بیمار محاسبه شده و وضعیت نهایی او مشخص می گردد. هر چه امتیاز بیمار بالاتر باشد، شدت خشکی دهان او بالاتر است. (۱۷) در اکثر مواقع از این پرسشنامه می توان جهت پیگیری وضعیت بیمار، فالوآپ های درمانی یا پاسخ به دارو درمانی و مداخله های کار آزمایی نیز استفاده نمود. در هنگام فالوآپ بیمار اگر امتیازات کسب شده در هر بار مراجعه با یکدیگر به میزان ۶ یا بیشتر اختلاف داشته باشند، این موضوع از نظر بالینی معنی دار است. (۳۱)

۳- پرسشنامه خلاصه شده وجود زروستومی ( Summated Xerostomia Inventory-Dutch): Van der و همکارانش، پرسشنامه ارائه شده توسط تامسون را کوتاه کردند و پرسشنامه Summated Xerostomia Inventory-Dutch را ارائه دادند که فقط پنج سوال در آن درج شده بود. (۴) در این پرسشنامه، پاسخ هیچوقت معادل ۱ امتیاز، پاسخ معمولاً معادل ۲ امتیاز و پاسخ همیشه معادل ۳ امتیاز در نظر گرفته شد. (۴)

۴- پرسشنامه خشکی دهان (Xerostomia questionnaire): ابزاری مهم برای ارزیابی میزان کاهش عملکرد غده بزاقی پس از رادیوتراپی سر و گردن می باشد. (۳۲)

**References:**

- 1- Humphrey S, Williamson R. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2001;85(2):162-169.
- 2- Yamuna Priya K, Muthu Prathibha K. Methods of collection of saliva - A Review. *International Journal of Oral Health Dentistry*. 2017;3(3):149-153.
- 3- Lakraj A, Moghimi N, Jabbari B. Sialorrhea: Anatomy, Pathophysiology and Treatment with Emphasis on the Role of Botulinum Toxins. *Toxins*. 2013;5(5):1010-1031.
- 4- Villa A, Connell CL, Abati S. Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation. *Ther Clin Risk Manag*. 2014;11:45-51.
- 5- Nautiyal V, Lal P, Verma M, Yadav R, Maria Das K, Kumar S. Objective and subjective assessment of xerostomia in patients of locally advanced head-and-neck cancers treated by intensity-modulated radiotherapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2018;0(0):0.
- 6- Mollaasadollah F, Bakhshi M, Namdari M, Papi Z, Shabestari S. Relationship of Chemical Composition of Saliva, Body Mass Index, and Nutrition with Permanent First Molar Caries in 6–12 Years Old. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020;8(D):42-47.
- 7- Bhattarai K, Kim H, Chae H. Compliance with Saliva Collection Protocol in Healthy Volunteers: Strategies for Managing Risk and Errors. *International Journal of Medical Sciences*. 2018;15(8):823-831.
- 8- Mentoring Advice [Internet]. Science | AAAS. 2020 [cited 21 August 2020]. Available from: <https://www.sciencemag.org/careers/2012/02/mentorin-g-advice>
- 9- Azizi A, Askari S. Comparison of Unstimulated Saliva Secretion Between Heavy Smokers and Nonsmokers Subjects. 2009;18(69):11-16.
- 10- Bakhtiari S, Azimi S, Mehdipour M, Amini S, Elmi Z, Namazi Z. Effect of Cigarette Smoke on Salivary Total Antioxidant Capacity. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2015;9(4):281-284.
- 11- Muddugangadhar B, Sangur R, Rudraprasad I, Nandeeshwar D, Dhanya Kumar B. A clinical study to compare between resting and stimulated whole salivary flow rate and pH before and after complete denture placement in different age groups. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*. 2015;15(4):356.
- 12- Mohamed R, Campbell J, Cooper-White J, Dimeski G, Punyadeera C. The impact of saliva collection and processing methods on CRP, IgE, and Myoglobin immunoassays. *Clinical and Translational Medicine*. 2012;1(1).
- 13- Arhakis A, Karagiannis V, Kalfas S. Sampling Small Volumes of Saliva for Determination of the Stress Hormone  $\alpha$ -Amylase: A Comparative Methodological Study. *Journal of Behavioral and Brain Science*. 2011;01(03):194-198.
- 14- Navazesh M, Kumar S. Measuring salivary flow. *The Journal of the American Dental Association*. 2008;139:35S-40S.
- 15- Punj A, Shenoy S, Kumari N, Pampani P. Estimation of Antioxidant Levels in Saliva and Serum of Chronic Periodontitis Patients with and without Ischemic Heart Disease. *International Journal of Dentistry*. 2017;2017:1-9.
- 16- Alves C, Brandão M, Andion J, Menezes R. Use of graduated syringes for measuring salivary flow rate: a pilot study. *Brazilian Dental Journal*. 2010;21(5):401-404.
- 17- Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Mirjalili N. Relationship of unstimulated saliva cortisol level with severity of oral dryness feeling in menopausal women. *Australian Dental Journal*. 2011;56(2):171-174.
- 18- David T W Wong. Collection, Storage, and Processing of Saliva Samples for Downstream Molecular Applications. 2010;666:21-30.
- 19- Heinzerling C, Stieger M, Bult J, Smit G. Individually Modified Saliva Delivery Changes the Perceived Intensity of Saltiness and Sourness. *Chemosensory Perception*. 2011;4(4):145-153.
- 20- Siqueira W, Salih E, Wan D, Helmerhorst E, Oppenheim F. Proteome of Human Minor Salivary Gland Secretion. *Journal of Dental Research*. 2008;87(5):445-450.
- 21- Alaei A, Azizi A, Valaei N, Moeini SH. The Correlation between Cigarette Smoking and Salivary Flow Rate *J Res Dentomaxillofac Sci*. 2017;2(3):5-9.
- 22- Dyasanoor S, Saddu SC. Association of Xerostomia and Assessment of Salivary Flow Using Modified Schirmer Test among Smokers and Healthy Individuals: A Preliminatory Study. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(1):211-213.
- 23- Chamani G, Zarei M, Yazdani-Anaraki N, Mafi S. Comparison of the effect of chewing mastic and spearmint sugar-free chewing gum on salivary flow rate and pH. *Journal of Oral Health and Oral Epidemiology*. 2019;8(3):138-144.
- 24- Mirzaii-Dizgah I, Agha-Hosseini F. Stimulated and unstimulated saliva progesterone in menopausal women with oral dryness feeling. *Clinical Oral Investigations*. 2010;15(6):859-862.
- 25- Stragierowicz J, Mikołajewska K, Zawadzka-Stolarz M, Polańska K, Ligocka D. Estimation of Cutoff Values of Cotinine in Urine and Saliva for Pregnant Women in Poland. *BioMed Research International*. 2013:1-11.
- 26- Kohler P, Winter M. A quantitative test for xerostomia. The saxon test, an oral equivalent of the schirmer test. *Arthritis & Rheumatism*. 1985;28(10):1128-1132.
- 27- Archer N, Liu D, Shaw J, Hannan G, Duesing K, Keast R. A Comparison of Collection Techniques for Gene Expression Analysis of Human Oral Taste Tissue. *PLOS ONE*. 2016;11(3):e0152157.

- 28- Sindhu S, Jagannathan N. Saliva: A Cutting Edge in Diagnostic Procedures. *Journal of Oral Diseases*. 2014;2014:1-8.
- 29- Hoseini A, Mirzapour A, Bijani A, Shirzad A. Salivary flow rate and xerostomia in patients with type I and II diabetes mellitus. *Electronic Physician*. 2017;9(9):5244-5249.
- 30- Ramírez Martínez-Acitores L, Hernández Ruiz de Azcárate F, Casañas E, Serrano J, Hernández G, López-Pintor R. Xerostomia and Salivary Flow in Patients Taking Antihypertensive Drugs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(7):2478.
- 31- Thomson W. Measuring change in dry-mouth symptoms over time using the Xerostomia Inventory. *Gerodontology*. 2007;24(1):30-35.
- 32- Shinta F, Dinar N, Susanto H, Agustina D. Unstimulated Salivary Flow Rate Corresponds with Severity of Xerostomia: Evaluation using Xerostomia Questionnaire and Groningen Radiotherapy- Induced Xerostomia Questionnaire. *Journal of Dentistry Indonesia*. 2014;21(1).
- 33- Goiato M, Andreotti A, Sônego M, da Silva E, Dos Santos D. Assessment of salivary flow and anxiety in patients rehabilitated with implant-supported prostheses. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2019;10(1):42.